Suomalaisen Eläin- ja Kasvitieteellisen Seuran Vanamon
Kasvitieteellisiä Julkaisuja
Osa 8. N:o 6.
Annales Botanici Societatis Zoologicæ-Botanicæ Fennicæ Vanamo
Tom. 8. N:o 6.

VERGLEICHENDE PERMEABILITÄTSSTUDIEN, BESONDERS AN NIEDEREN PFLANZEN

J. E. ELO

13 Abbildungen und 14 Tabellen im Text

Suomenkielinen selostus:
Vertailevia läpäiseväisyystutkimuksia, erikoisesti alemmilla kasveilla

HELSINKI 1937

INHALTSVERZEICHNIS.

Seite

I. Einleitung 1
II. *Bacteria* 4
1. Die bisherigen Kenntnisse über die Permeabilität der Bakterien 4
2. Versuche mit gramnegativen Bakterien 6
3. Orientierende Versuche mit grampositiven Bakterien 23
III. *Oscillatoria princeps* und *O. limosa* 26
IV. *Licmophora œdipus* 40
V. *Spirogyra* sp. 51
VI. *Ceramium diaphanum* 64
VII. Junge Wurzelzellen von *Lepidium sativum* 81
VIII. Embryonale Zellen der Wurzelspitze von *Lupinus albus* 91
IX. Vergleich mit anderen Zellen 94
X. Zusammenfassung 102
Literaturverzeichnis 104
Suomenkielinen selostus 107

HELSINKI 1937
DRUCKEREI-A-G. DER FINNISCHEN LITERATURGESELLSCHAFT

I. EINLEITUNG.

Als im letztvergangenen Jahrzehnt ein zielbewusstes Studium der Permeabilität der pflanzlichen Zellen für zahlreiche verschiedene Anelektrolyte einsetzte, arbeitete man anfangs nur mit solchen Objekten, die geeignet schienen, bei Anwendung einer bestimmten Methode die genauesten Resultate zu liefern. Nach diesen umfassenden, an einzelnen Objekten ausgeführten Untersuchungen (RUHLAND & C. HOFFMANN 1925; BÄRLUND 1929; SCHÖNFELDER 1931; HÖFLER 1932–34 und 1936; COLLANDER & BÄRLUND 1933; v. HOFE 1933; WAHRY 1936; C. HOFFMANN 1936), die einen festen Grund für das fortgesetzte Studium des Gegenstandes bildeten, ging man dazu über, mit einer grösseren Zahl von Objekten, aber wenigeren Verbindungen zu arbeiten. Auch bei diesen Untersuchungen (WILBRANDT 1932; BONTE 1935; HOFMEISTER 1935; MARKLUND 1936) wurde die Wahl der Objekte zum grossen Teil dadurch bestimmt, wie gut sie sich zum Studium nach einer bestimmten, im voraus gewählten Methode eigneten. Ein derartiges Verfahren hatte jedoch zur Folge, dass die Permeabilitätseigenschaften einiger Pflanzengruppen ebenso wie einiger physiologisch-anatomischen Zelltypen wegen der mit ihrer Untersuchung verknüpften methodischen Schwierigkeiten völlig ungeklärt blieben. Unter diesen Umständen schien es wünschenswert, dass insbesondere die Durchlässigkeitseigenschaften der Vertreter gerade dieser Gruppen ihre Erschliessung fänden und diese Objekte dadurch in den Kreis des vergleichenden Permeabilitätsstudiums gezogen würden.

Das Arbeitsprogramm der hier vorgelegten Untersuchung fusst eben auf dieser Grundlage. Seine Wahl wurde hauptsächlich von dem Wunsch diktiert, das Studium auf solche systematische Gruppen (*Bacteria, Cyanophyceae, Rhodophyceae* u. a.) oder physiologisch-anatomische Zellgruppen (embryonale Zellen) zu erstrecken, deren

Permeabilitätseigenschaften bisher nur unvollständig oder überhaupt nicht untersucht worden waren. Unter diesen Umständen war es natürlich nicht möglich, die Frage nach der zur Anwendung gelangenden Untersuchungsmethode im voraus zu entscheiden, und so kam es denn auch, dass fast jedes Objekt nach einer anderen osmotischen Methode untersucht wurde, und zwar nach derjenigen, die sich jeweils gerade für das betreffende Objekt am besten zu eignen schien. Hat das auch zu einem gewissen erhöhten Arbeitsaufwand geführt, so hat sich dadurch doch wenigstens der grosse Vorteil ergeben, dass ein und dieselbe Person beim Arbeiten mit mehreren Methoden gleichzeitig sich in der Lage befunden hat, ihre Anwendbarkeit kritisch zu prüfen und sie zugleich auch weiterzuentwickeln, in dieser Weise neue Beiträge zur Methodik des Permeabilitätsstudiums liefernd.

Die meisten meiner Versuchsobjekte sind Wasserpflanzen. Bei den Versuchen haben sie sich also fast in ihrem natürlichen Milieu befunden. Die Herstellung von Schnittpräparaten wurde nur bei den Wurzeln von *Lupinus* nötig. In dieser Weise dürfte sich die Einwirkung des Wundreizes auf die Permeabilitätseigenschaften des Plasmas in den vorliegenden Versuchen auf recht wenig beschränken.

Da meine Untersuchung eine direkte Fortsetzung der Arbeiten Marklunds (1936) bildet, studierte ich in der Hauptsache das Permeationsvermögen der gleichen Anelektrolyte, deren auch er sich in seiner Untersuchung bedient hatte. Bei der Abfassung seines Arbeitsprogramms hatte Marklund aus der Zahl der von Bärlund (1929) studierten Anelektrolyte 12–15 ausgewählt, die im allgemeinen für das Versuchsobjekt gefahrlos oder nicht zu giftig, zugleich aber genügend wasserlöslich waren und eine möglichst verschiedenartige chemische Zusammensetzung, Lipoidlöslichkeit und Teilchengrösse aufwiesen.

Den Grundstock der zur Anwendung gelangten Verbindungen haben folgende 12 Anelektrolyte gebildet: Saccharose, Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Urotropin, Harnstoff, Methylharnstoff, Äthylenglykol, Azetamid, Propionamid, Antipyrin und Trimethylzitrat. Bei der Untersuchung der Bakterien konnten keine schnell permeierenden Verbindungen geprüft werden. Dafür habe ich in diesem Falle eine grössere Zahl langsamer permeierender Stoffe (Raffinose, Mannit, Glukose, Rhamnose, Glykokoll und Methylglukosid) benutzt.

Die verwendeten Stoffe bestanden mit Ausnahme der Raffinose, Rhamnose und des Glykokolls aus denselben Präparaten, deren sich Bärlund (1929) und Collander & Bärlund (1933) bei ihren Arbeiten bedient haben. Es genügt hier deshalb ein Hinweis auf die Darlegungen bei Bärlund (l. c., S. 16–). Die Raffinose, die Rhamnose sowie das Glykokoll waren Schering-Kahlbaums reinstes Fabrikat.

Vor dem Gebrauch wurden das Azetamid, Propionamid, Butyramid, der Diäthylharnstoff sowie das Methylglukosid mit Äther gewaschen. Die Trimethylzitratlösung neutralisierte ich mit fein pulverisiertem $CaCO_3$.

Die Namenverkürzungen der gebrauchten Chemikalien sind hier wie im folgenden dieselben wie bei Collander & Bärlund (1933, S. 16).

II. BACTERIA.

1. DIE BISHERIGEN KENNTNISSE ÜBER DIE PERMEABILITÄT DER BAKTERIEN.

Das einzige Bakterium, dessen Permeabilitätseigenschaften bisher eingehend untersucht worden sind, ist das eigenartige Schwefelbakterium *Beggiatoa mirabilis*. RUHLAND & HOFFMANN (1925) sowie SCHÖNFELDER (1931) bestimmten mittels der Knickungsmethode die Grenzkonzentrationen zahlreicher Elektrolyte und noch zahlreicherer Anelektrolyte für *Beggiatoa*. Die Resultate zeigten entschieden, dass das Permeationsvermögen der untersuchten Verbindungen in erster Linie durch die Teilchengrösse bestimmt wird, während der Lipoidlöslichkeit in diesem Falle nur eine sekundäre Bedeutung zukommt. *Beggiatoa* wurde in dieser Weise das klassische Paradebeispiel der Ultrafiltertheorie.

Am Ende ihrer Arbeit legen RUHLAND & HOFFMANN (l. c., S. 80) für die Permeabilität verschiedener Zellen folgende (abnehmende) Reihe vor: *Beggiatoa mirabilis* > Nierenepithelzellen > Bakterien (?) > gewöhnliche Pflanzenzellen. Die genannten Autoren scheinen demnach die Bakterienprotoplasten für durchlässiger zu halten als andere pflanzliche Protoplasten, obwohl mit Vorbehalt, wie das von ihnen gesetzte Fragezeichen angibt. In der Tat weiss man auch heute noch sehr wenig von der Permeabilität der »gewöhnlichen« Bakterien, wohl sicherlich vor allem darum, weil die Kleinheit der Bakterienzellen die an ihnen auszuführenden Permeabilitätsmessungen aufs höchste erschwert.

Plasmolytisch hat FISCHER (1895; 1903) die Permeation einiger Anelektrolyte in die Zellen zahlreicher Bakterienarten untersucht. Von den u. a. in mein Arbeitsprogramm aufgenommenen Plasmolytika bewirkten Antipyrin, Harnstoff und Glyzerin in den Bakte-

rienzellen überhaupt keine Plasmolyse. In ihrem Verhalten beispielsweise zu Rohrzuckerlösungen verteilten sich die Bakterien auf zwei Gruppen: 1. plasmolysierbare Bakterien, umfassend die meisten gramnegativen Bakterien, und 2. nichtplasmolysierbare Bakterien, zu denen wiederum die meisten grampositiven Bakterien zählen. In den Bakterienzellen der erstgenannten Gruppe wurde eine durch 15 %ige (0.440 GM) Rohrzuckerlösung bewirkte eben scharfe Plasmolyse gewöhnlich in 1–2 Stunden rückgängig (Fischer 1895, S. 150), zuweilen aber auch erheblich rascher, also sehr rasch im Vergleich zur Plasmolyse anderer pflanzlicher Protoplasten.

Hylkema (1916) hat die Permeabilitätsverhältnisse von *Bacterium coli*-Zellen nach dem Sedimentverfahren studiert. »Hierbij is de permeabiliteitstoestand beoordeeld, zooals die is, wanneer de bacillen niet meer dan $^1/_2$ uur in de betreffende oplossingen hebben verkeerd» (S. 78). Da nun die verwendeten Harnstoff-, Glyzerin- und Mannitlösungen (s. l. c., Tab. V, S. 152–) nach Ablauf dieser Zeit kein »inkrimping» der *B. coli*-Zellen verursachten, betrachtet Hylkema (l. c., S. 79) die Zellen als völlig permeabel für die genannten Stoffe.

Hill (1929) wiederum hat mit photogenen *Bacillus Fischeri*-Zellen experimentiert, wobei er als Indikator der Permeation die Zeit anwandte, innerhalb welcher das Leuchten in verschieden starken Lösungen aufhört. In einer 1.0-mol. Glyzerinlösung war diese Zeit nur um 20 %, in einer 1.0-mol. Harnstofflösung aber dreimal länger (41 Sekunden) als in reinem Wasser (15 Sekunden). Beide Substanzen dringen also äusserst schnell in die Bakterienzellen ein, aber »urea did not penetrate as readily as . . . glycerine» (l. c., S. 868).

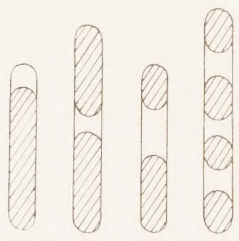
Weil sich nun in sämtlichen obigen Untersuchungen der als Indikator der Permeation verwendete Vorgang sehr rasch abspielte, hielt man die Bakterienprotoplasten allgemein für ganz besonders permeabel in bezug auf sämtliche untersuchte Anelektrolyte, und zwar sogar in bezug auf sonst kaum merkbar permeierende Substanzen wie Mannit und Rohrzucker. Die Bakterien schienen hinsichtlich ihrer Permeabilitätsverhältnisse fast eine Sonderstellung einzunehmen, weshalb eine nähere Erschliessung derselben vieles von Interesse versprach.

2. VERSUCHE MIT GRAMNEGATIVEN BAKTERIEN.

Die Versuchsobjekte und ihre Kultur. Die Plasmolyseformen. — Zu den Versuchen erhielt ich mehrere Reinkulturen der *Bacterium coli*-Gruppe aus dem Bakteriologisch-Serologischen Institut der Universität Helsinki. Zunächst galt es zu entscheiden, welche von diesen Bakterien sich am besten zum Versuchsobjekt eigneten. Da ich als Untersuchungsmethode das sog. Grenzplasmolyseverfahren gewählt hatte, wurde schon dadurch an das Objekt die Forderung gestellt, dass die Plasmolyse einwandfrei deutlich wahrnehmbar sein musste. Es erwies sich, dass von den zugänglichen Bakterien *Bacterium paracoli* »4a8», *B. coli* »Randen» und *B. aerogenes* »Nordlund» (s. C. & Maja Nyberg 1933, S. 4–) diese Forderung vorzüglich erfüllten.

Die Bakterien wurden auf Agar-Agar (1.5 % Agar-Agar, 0.5 % Fleischextrakt, 1 % Pepton und 1 % Rohrzucker; s. Fischer 1903, S. 24) gezüchtet. Die Herstellung der Nährböden sowie die Züchtung der Bakterien in den Proberöhrchen fanden in der allgemein üblichen Weise statt. Die Kulturen durften sich während 14–16 Stunden im Wärmeschrank bei 35° C entwickeln. Sie ergaben ein ziemlich homogenes Bakterienmaterial, in welchem die einzelnen Zellen eine grössere Länge erreichten als in älteren Kulturen.

Die Plasmolyse äusserte sich bei diesen Stäbchenbakterien stets in einer sehr regelmässigen, konvexen Form. In schwach plasmolysierenden Lösungen zog sich der Zellinhalt bei den kürzeren Stäbchen vom einen Zellende zurück (Abb. 1 a), bei den längeren Stäbchen sammelte er sich an beiden Zellenden an (Abb. 1 b). Bei kräftigerer Plasmolyse schnürte sich der Zellinhalt der kürzeren Stäbchen in zwei, bei den längeren in mehrere Teile ab (Abb. 1 c bzw. d) (vgl. Fischer 1895 und 1903; Raichel 1928). Dabei konnten die Plasmaklümpchen ebenso wie ihre leeren Zwischenräume verschieden lang sein.



a *b* *c* *d*

Abb. 1. Plasmolysierte *B. paracoli*-Zellen. Nähere Erklärung im Text.

In den eigentlichen Permeabilitätsversuchen war es nicht möglich, diese Detailformen der Plasmolyse zu verfolgen, sondern die Aufmerksamkeit musste in erster Linie auf das von den plasmolysierten und unplas-

molysierten (bzw. deplasmolysierten) Bakterien gelieferte Allgemeinbild gerichtet werden. Der Zellinhalt der plasmolysierten Bakterien wirkte nämlich infolge der Lichtbrechung dunkel, mitunter fast schwarz, die leeren Zwischenräume hell, während wiederum die unplasmolysierten Bakterien eine gleichmässig graue Färbung aufwiesen.

Um später bei den Versuchen die nur schwach plasmolysierten Bakterien von den überhaupt nicht plasmolysierten Zellen einwandfrei unterscheiden zu können, nahm ich Bakterien abwechselnd aus Wasser und verschieden starken Rohrzuckerlösungen unter das Mikroskop. Allmählich (in etwa 2 Wochen) gewöhnte sich dann das Auge an eine sichere Unterscheidung der plasmolysierten und unplasmolysierten Zellen und zugleich auch an die Beurteilung des Plasmolysegrades. Die ersten Schätzungen des Plasmolysegrades der im Gesichtsfeld befindlichen Zellen führte ich unter Beihilfe einer zweiten Person in der Weise aus, dass beide abwechselnd den Plasmolysegrad des gesamten Gesichtsfeldes abschätzten und hiernach die erhaltenen Ergebnisse miteinander verglichen. So schulte sich das Auge zu grösserer Objektivität in der Beurteilung des Plasmolysegrades.

Die Versuchsmethodik. — Nach vielen Vorversuchen gelangte ich schliesslich zu folgender Anordnung und Ausführung der eigentlichen Versuche:

Kurz vor Beginn der Versuche wurden die erforderlichen Stammlösungen volumnormal in Messkolben hergestellt. Als Lösungsmittel diente stets gewöhnliches Leitungswasser (s. Bärlund 1929, S. 18). Die einzelnen Lösungsreihen wurden durch Verdünnung aus der Stammlösung erhalten; der Konzentrationsunterschied der einzelnen Glieder der Reihe betrug gewöhnlich entweder 0.02 GM oder 0.05 GM. Die Versuchslösungen befanden sich in kleinen, verschliessbaren zylinderförmigen Glasgefässen. Die Lösungsreihen wurden jeden Tag frisch hergestellt.

Bei der Arbeit habe ich mich der grenzplasmolytischen Methode sowohl in ihrer Form des »Total»-Druckverfahrens wie auch des Partialdruckverfahrens bedient, jedoch unter Berücksichtigung einiger im Hinblick auf die speziellen Eigenschaften des Versuchsobjekts notwendigen Modifikationen. Bei den Versuchen war ich nämlich gezwungen, jedesmal nur mit einer einzigen Lösung zu arbeiten, um erst danach zur nächsten überzugehen, da in den Bakterienzellen die Plasmolyse äusserst rasch rückgängig wurde.

Bei kurzer Versuchsdauer (1–3 Minuten) verfuhr ich in der Weise, dass ich zuallererst einen Objektträger fertig auf dem Tisch des Mikroskops zurechtlegte. Mit Hilfe einer Platinöse wurde nun der im Proberöhrchen befindlichen Bakterienkultur eine kleine Portion entnommen und möglichst gleichmässig in einen auf den Objektträger gebrachten Tropfen der zu untersuchenden Lösung verrührt, so dass das Ganze einen grauen Farbton annahm. Zugleich wurde die Stoppuhr in Gang gesetzt. Nach rascher Anbringung eines Deckglases erfolgte so die Betrachtung des gesamten Gesichtsfeldes bei Ölimmersion. Die erste

Beobachtung fand gewöhnlich in 20–30 Sekunden, seltener erst nach 30–45 Sekunden statt. Die genaue Verfolgung des Vorgangs wurde so lange fortgesetzt, bis sich der Plasmolysegrad 50 % okular abschätzen liess. Sicherheitshalber wurde noch nach Verlauf weiterer 1–2 Minuten die Deplasmolyse kontrolliert.

Bei längeren Versuchen wiederum teilte ich von der zu untersuchenden Lösung 1–0.2 ccm in ein kleines mit einem Glaspfropfen versehenes Röhrchen ab. In diese Menge wurde nun die Bakterienmasse durch Umschütteln homogen verteilt und die erste Beobachtung nach Verlauf von mindestens 3 Minuten vorgenommen. Die nächsten Beobachtungen erfolgten dann unmittelbar danach in Zeitabständen von 1–2 Minuten, bis wiederum der Plasmolysegrad von 50 % erreicht worden war, wonach zur Kontrolle der weitere Verlauf der Deplasmolyse noch beobachtet wurde. (Für jede Beobachtung wurde stets ein neuer Tropfen der Bakteriensuspension auf den Objektträger gebracht.) Dann ging ich zur folgenden entweder stärkeren oder schwächeren Lösung über, je nachdem von welchem Ende der Lösungsreihe ich angefangen hatte.

Bei den nach dem Partialdruckverfahren ausgeführten Versuchen enthielten die einzelnen Glieder der Lösungsreihen 0.3 GM des zu untersuchenden Stoffes und daneben Rohrzucker in Konzentrationsstufen von 0.02 GM, von 0.2 GM abwärts beginnend (osmotischer Wert der Bakterienzellen 0.18 GM oder 0.19 GM Rohrzucker). Die Zahl der Lösungen war abhängig von der plasmolysierenden Wirkung der zu untersuchenden Verbindung. In diesen Versuchen hatte die erste Beobachtung möglichst schnell zu erfolgen, da die deutliche plasmolysierende Wirkung der kombinierten Lösung nur sehr kurz andauerte. Deshalb musste die Beobachtungstechnik dahin ausgebildet werden, dass sie eine möglichst rasche Beobachtung des Plasmolysevorgangs ermöglichte. Ich verfuhr also folgenderweise:

Der Objektträger wurde wie vorher auf dem Tisch des Mikroskops zurechtgelegt. Das Deckgläschen befestigte ich aber jetzt mittels Zedernöl an dem Immersionsobjektiv selbst. Nun wurde (wie vorher) rasch ein wenig Bakterienmasse in einen auf den Objektträger gebrachten Tropfen der zu untersuchenden Lösung verrührt und gleichzeitig das Mikroskop auf das Versuchsobjekt eingestellt. Diese Manipulation dauerte im ganzen gewöhnlich etwa 8 Sekunden. Die Beobachtung konnte indes erst nach 10–12 Sekunden, mitunter sogar erst nach 15 Sekunden begonnen werden, da durch das Auflegen des Deckglases die Lösung in heftige Bewegung versetzt wurde, die die Beobachtung erschwerte, ja völlig verhinderte.

Immer erfolgte die Bestimmung der zur Erreichung der Grenzplasmolyse nötigen Zeit mindestens zweimal in derselben Lösung; während der zweiten Bestimmung hielt ich die Stoppuhr nach unten gekehrt auf dem Tisch, um sicher zu sein, dass das Resultat nicht durch subjektive Erwartungen hervorgerufen war. Zu demselben

Zweck vertauschte ich auch zuweilen die einzelnen Glieder der Lösungsreihe ganz beliebig (an dem Boden der Versuchsgefässe hatte ich Papierzettel mit den nötigen Bezeichungen angeklebt). Ferner habe ich nicht nur zu Beginn meiner Arbeit, sondern auch zwischen den einzelnen Versuchen die Bakterien in reinem Wasser beobachtet, um ein sicheres Bild von den unplasmolysierten Bakterienzellen zu erhalten. Das gab die Möglichkeit zu einer Kontrollierung der Ergebnisse, die denn auch keine grösseren Schwankungen aufgewiesen haben. — Stets habe ich vor und nach den Versuchen eine Bestimmung des Rohrzuckerwertes der Bakterien vorgenommen. Die Differenz hat hierbei stets weniger als 0.01 GM betragen.

Wie Bärlund (1929) und Marklund (1936) ordnete ich die Versuche so an, dass die plasmolysierende Wirkung mindestens zweier Verbindungen gleichzeitig an möglichst gleich beschaffenen, dem gleichen Punkt der Nährbodenoberfläche entstammenden Bakterienzellen (diese waren im oberen Teil der schrägen Nährbodenfläche etwas kürzer als im unteren Teil derselben) untersucht werden konnten. Dadurch ergab sich die Möglichkeit zu einem direkten Vergleich der mit den verschiedenen Stoffen erhaltenen Versuchsergebnisse. Als permanenten Vergleichsstoff wandte ich hierbei den Rohrzucker an, der als ein Glied in jeder gleichzeitig zu untersuchenden Gruppe enthalten war. — Die Temperatur schwankte in den Versuchen ein wenig zwischen 17° und 18° C. — Beim Mikroskopieren benutzte ich stets eine starke Mikroskopierlampe und als Lichtkondensator einen mit Wasser gefüllten Messkolben.

Die Versuchsergebnisse. — Unten werden in verkürzter Form nur die vollständigsten und besten Versuchsreihen wiedergegeben, die ein Bild von der beobachteten Einwirkung der untersuchten Verbindungen auf den Verlauf der Plasmolyse und Deplasmolyse in den Bakterienzellen gewähren. Im Versuchsprotokoll sind vom eigentlichen Versuch nur die Lösungskonzentrationen des untersuchten Plasmolytikums sowie die zur Erreichung des Plasmolysegrades 50 % nötige Zeit angegeben. Nach Möglichkeit sind die verschiedenen für ein und denselben Stoff geltenden Versuchsreihen so angeordnet worden, dass als letzte diejenigen Versuche stehen, die mit verdeckter Stoppuhr ausgeführt wurden.

Versuche mit *B. paracoli.*

9. II. 34. Temp. 17.0 C. 14 Stunden alte Kultur.[1] $C = 0.19$ GM.

0.20	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	
1′ 30″	2′ 30″	4′ 45″	6′ 30″	8′ 15″	9′ 30″	Saccharose
1′ 45″	2′ 45″	5′ 15″	6′ 30″	8′ 30″	10′	»
	45″	2′ 30″	4′ 45″	6′ 45″	8′ 45″	Glukose
	1′	3′	5′ 15″	6′ 45″	8′ 30″	»
	45″	3′	5′ 15″	6′ 45″	8′ 45″	Mannit
	45″	2′ 45″	5′	6′ 45″	8′ 45″	»
	1′	2′ 15″	3′ 15″	4′ 30″		Methylglykosid
	1′	2′ 30″	3′ 30″	5′		»

27. III. 34. Temp. 18.0° C. 15 Stunden alte Kultur. $C = 0.20$ GM.
(Parallelversuche mit entsprechenden *B. coli*-Versuchen).

0.20	0.22	0.23	0.25	0.30	
45″	2′ 15″		4′ 45″	8′ 30″	Saccharose
			45″	4′ 15″	Methylglykosid
			1′	4′ 30″	»
		45″	3′	7′	Rhamnose
		1′	3′ 30″	7′ 15″	»
			45″	4′ 45″	Glykokoll
			1′	5′	»

9. I. 34. Temp. 17.0° C. 16 Stunden alte Kultur. C 0.17 GM.

0.18	0.20	0.22	0.23	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	
1′	3′	5′ 30″								Saccharose
	2′ 45″	5′								»
			30″	3′ 15″	5′	6′ 45″	9′	10′	12′30″	Erythrit
			45″	3′	5′ 45″	6′ 30″	9′ 15″	10′ 15″	12′45″	»

10. I. 34. Temp. 17.0° C. 15 Stunden alte Kultur. $C = 0.17$ GM.

0.18	0.20	0.22	0.23	0.25	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	
45″	3′ 15″	5′ 30″								Saccharose
1′	3′	5′ 15″								»
			30″	3′15″	5′ 45″	7′	8′ 30″	9′ 45″	11′ 45″	Erythrit
			30″	3′ 45″	5′ 15″	6′ 45″	8′ 45″	10′	12′ 15″	»

7. II. 34. Temp. 17.0° C. 14 Stunden alte Kultur. C 0.18 GM.

0.18	0.20	0.22	0.24	0.25	0.26	0.30	0.35	0.40	
45″	2′ 30″	3′ 45″	5′ 45″		7′ 30″	10′ 45″			Saccharose
			30″	1′ 30″		3′ 15″	5′ 30″	7′ 45″	Erythrit
			30″	1′ 15″		2′ 45″	5′	7′ 30″	»

[1] Alter der Kultur am Anfang des Versuches.

11. I. 34. Temp. 17.0° C. 16 Stunden alte Kultur. $C = 0.18$ GM.

0.18	0.20	0.22	0.24	0.40	0.50	0.75	
45″	2′ 15″	3′ 45″	6′				GM Saccharose
45″	2′ 45″	4′	5′ 30″				»
				1′ 15″	2′ 45″	3′ 45″	Malonamid
				45″	3′	4′	»

12. I. 34. Temp. 17.0° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.18$ GM.

0.18	0.20	0.22	0.24	0.40	0.50	0.75	
45″	3′	4′	6′				GM Saccharose
30″	2′ 15″	3′ 45″	5′ 45″				»
				1′ 30″	2′ 45″	4′ 15″	Malonamid
				1′ 15″	2′ 45″	3′ 45″	»

5. II. 34. Temp. 17.0° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.19$ GM.

0.18	0.20	0.22	0.24	0.26	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	
	1′ 30″	2′ 30″	5′	6′ 30″	9′ 45″					GM Saccharose
					25″	1′	1′ 30″	2′ 15″	2′ 45″	Malonamid
					30″	45″	1′ 15″	2′	2′ 30″	»
					15″	45″	1′ 30″	2′ 15″	3′	»

26. I. 34. Temp. 17.5° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.18$ GM.

0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	0.26	
		45″	2′ 45″	4′ 15″	6′	7′ 45″	GM Saccharose
		30″	2′ 30″	4′	5′ 45″	8′	»
45″	1′ 45″						S[1] + 0.5 GM Glyzerin
1′	2′						»
45″	1′ 45″						»
45″	1′ 30″						»
30″	1′ 30″						S + 0.5 GM Harnstoff
45″	1′ 45″						»
45″	1′ 15″						»
30″	1′ 30″						»

3. II. 34. Temp. 17.0° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.18$ GM.

0.10	0.12	0.14	0.16	0.17	0.18	0.20	0.22	0.24	
					30″	3′	4′	6′	GM Saccharose
					45″	2′ 30″	3′ 45″	6′	»
15″	30″	45″	1′ 45″						S + 0.5 GM Glyzerin
17″	45″	1′ 15″	2′						»
15″-30″	45″	1′	2′						»
15″	30″	45″	1′ 30″						S + 0.5 GM Harnstoff
25″	30″	1′	1′ 45″						»
13″	30″-45″	45″	1′ 30″						»

[1] S bedeutet hier und im folgenden: »GM Saccharose».

0.10	0.12	0.14	0.16	0.17	
				15″-30″	S + 0.5 GM Urotropin
				15″	»
				30″	»

Versuche mit *B. coli.*

19. III. 34. Temp. 18.0° C. 15 Stunden alte Kultur. $C = 0.19$ GM.

0.20	0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	
1′ 45″	2′ 45″	5′ 15″	6′ 45″	8′ 15″	9′ 30″	Saccharose
1′ 30″	2′ 30″	5′	6′ 15″	8′	9′ 30″	»
	30″	2′ 30″	5′ 15″	6′ 45″	8′ 30″	Glukose
	45″	3′ 15″	5′ 30″	7′	8′ 45″	»
	45″	2′ 45″	5′ 15″	6′ 45″	8′ 45″	Mannit
	1′	3′	5′ 15″	7′	8′ 45″	»

27. III. 34. Temp. 18.0°C. 15 Stunden alte Kultur. $C = 0.20$ GM.

0.20	0.22	0.23	0.25	0.30	
45″	2′ 30″		5′	8′ 30″	Saccharose
			30″	4′	Methylglykosid
			45″	4′	»
		1′	3′	7′	Rhamnose
		45″	2′ 45″	6′ 45″	»
			45″	4′ 30″	Glykokoll
			45″	4′ 45″	»

10. III. 34. Temp. 17.0° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.18$ GM.

0.10	0.14	0.16	0.18	0.20	0.22	0.24	
			45″	2′ 30″	4′ 15″	6′ 15″	Saccharose
			45″	2′ 15″	4′	5′ 45″	»
15″	1′	1′ 45″					S + 0.5 GM Glyzerin
20″	1′ 15″	2′					»
15″	45″	1′ 30″					S + 0.5 GM Harnstoff
17″	1′	1′ 30″					»

Versuche mit *B. aerogenes.*

11. IV. 34. Temp. 18.0° C. 14 Stunden alte Kultur. $C = 0.22$ GM.

0.22	0.24	0.26	0.28	0.30	0.35	0.40	0.45	0.50	
45″	3′ 30″	5′ 45″	8′	10′ 15″					Saccharose
45″	3′ 15″	5′ 15″	7′ 30″	10′					»
	30″	3′ 45″	5′ 15″	6′ 45″					Mannit
	45″	3′ 15″	4′ 45″	6′ 30″					»
	30″	3′ 15″	4′ 45″	6′					Glukose
	30″	3′ 15″	4′ 30″	6′ 15″					»
				45″	3′ 15″	5′	6′ 30″	8′ 30″	Erythrit
				1′	3′ 15″	5′ 30″	6′ 45″	9′	»

Bei den Bakterien ist der Verlauf der Plasmolyse so rasch, dass ich in keiner einzigen der untersuchten Lösungen eine Zunahme der Plasmolyse während der eigentlichen Beobachtungszeit sicher feststellen konnte. (Bei den am allerlangsamsten permeierenden Verbindungen — Saccharose, Glukose, Mannit — schien es allerdings zuweilen, als hätte die Plasmolyse ganz in den ersten Augenblicken der Beobachtung ein wenig zugenommen.) Dies rührt nicht etwa von einer besonders grossen Permeabilität des Bakterienprotoplasmas her, sondern einfach von der den Bakterienzellen eigenen sehr grossen relativen Oberfläche, die es mit sich bringt, dass zur gleichen Zeit, wenn sich die erste sichere Wahrnehmung der Plasmolyse machen lässt, oder auch schon früher, das osmotisch den Zellen zu entziehende Wasser bereits Zeit gefunden hat, herauszudiffundieren und die zu untersuchende Verbindung ihrerseits wieder durch die Zellwand hindurch bis an die Oberfläche des Protoplasten in einer maximale Plasmolyse bewirkenden Konzentration vorzudringen (vgl. Bärlund 1929, S. 33, sowie Huber & Höfler 1930). Aus gleichem Grunde wird auch eine stärkere Plasmolyse in den Bakterienzellen schon binnen kurzer Zeit rückgängig, und eben deswegen lässt sich plasmolytisch die Permeabilität der Bakterien auch einzig für langsam permeierende Stoffe untersuchen.

Gleichzeitig mit obigen Versuchen verglich ich nach dem Partialdruckverfahren die plasmolysierende Einwirkung des Methylharnstoffs mit derjenigen des Harnstoffs auf *B. paracoli*. Dabei stellte ich fest, dass eine Lösung, enthaltend 0.50 GM Harnstoff + 0.18 GM Rohrzucker, eine allgemeine deutliche Plasmolyse bewirkte, während in einer entsprechenden Methylharnstoff-Rohrzuckerlösung der Plasmolysegrad von nur etwa 50 % erreicht wurde, ferner auch, dass in einer Lösung, enthaltend 0.50 GM Harnstoff + 0.16 GM Rohrzucker, in den Zellen deutliche Plasmolyse eintrat, während eine entsprechende Methylharnstoff-Rohrzuckerlösung keine deutlich wahrnehmbare Plasmolyse zu bewirken vermochte. (Der Rohrzuckerwert des Bakterienzellinhalts belief sich auf 0.18 GM.) Der Methylharnstoff permeiert also in die Zellen von *B. paracoli* deutlich rascher als der Harnstoff.

Auch mit Raffinose wurden einige Versuche ausgeführt. Sie ergaben unerwartete Resultate, die hier eingehend erörtert seien. Die plasmolysierende Wirkung der Raffinose studierte ich an *B. paracoli*

und *B. coli*. Es zeigte sich hierbei, dass — trotzdem eine 0.25-mol. Rohrzuckerlösung eine deutliche allgemeine Plasmolyse ergab — die Zellen in einer 0.25-mol. Raffinoselösung (gewichtsnormale Raffinoselösung zu 0.50 GM als Stammlösung, mit einem Wasserzusatz im Volumverhältnis 1 : 1) überhaupt nicht plasmolysiert wurden, dagegen aber schmäler aussahen als im Wasser oder in einer entsprechenden Rohrzuckerlösung. Auch in einer 0.333-mol. Raffinoselösung (obige Stammlösung mit einem Wasserzusatz im Volumverhältnis 2 : 1) konnte eine sicher wahrnehmbare Plasmolyse nicht nachgewiesen werden, die Zellen waren aber darin entschieden schmäler als im Wasser, einige hatten sich sogar gekrümmt. Eine 0.50-mol. Raffinoselösung (gewichtsnormal) führte mitunter zu einer gewaltsamen Plasmolyse, deren Konstatierung aber infolge der geradezu irritierenden Schmalheit und oft gekrümmten Form der Zellen recht schwierig war. Die Beobachtungen erstreckten sich auf 10–20 Minuten, zuweilen auch auf eine halbe Stunde. — Die konstatierte Verschmälerung und teilweise Krümmung der Zellen dürfte wohl ihre Ursache in der schlechten Durchlässigkeit der Zellwand für Raffinose gehabt haben (vgl. Fischer 1903, S. 30, sowie S. 33 der vorl. Untersuchung).

Fehlerquellen. — Allgemein bekannt ist ja, dass plasmolytische Versuchsergebnisse stets mit bestimmten Fehlern behaftet sind, die uns zwingen, sie mit der nötigen Kritik zu behandeln. Da diese Fehlerquellen aber schon bei Bärlund (1929, S. 49–) eingehend besprochen worden sind, will ich hier nur diejenigen Momente berühren, die bei der Beurteilung der beim Arbeiten mit Bakterien erhaltenen Resultate besonders zu berücksichtigen sind.

Es leuchtet ein, dass die Kleinheit der Bakterienzellen die an ihnen auszuführenden Permeabilitätsbestimmungen in mannigfacher Weise erschwert. So lässt sich der Rohrzuckerwert des Zellinhalts schon allein aus dem Grunde nicht mit einer gar zu grossen Genauigkeit bestimmen, weil etwas Rohrzucker schon vor der ersten Beobachtung in die Zellen eingedrungen ist. — Vorhin habe ich erwähnt, dass ich den Plasmolysegrad stets nur okular abgeschätzt habe. Es ist klar, dass das nicht mit derselben Genauigkeit geschehen konnte wie in solchen Versuchen, in denen ein genaues Abzählen der plasmolysierten und unplasmolysierten Zellen möglich ist. Unter Berücksichtigung der oben mitgeteilten Vorsichtsmassregeln zeigt uns jedoch ein Blick auf das Versuchsprotokoll, dass diese Fehler-

quelle nicht imstande gewesen ist, die Ergebnisse wesentlich zu beeinflussen. — Gegen das Partialdruckverfahren lässt sich einwenden, dass der Rohrzucker während des Versuches in die Zellen eindringt und dort eine Erhöhung des osmotischen Wertes bewirkt. Diesen Umstand habe ich jedoch bei der Berechnung der Resultate nach Möglichkeit berücksichtigt. Mit dem Partialdruckverfahren dürfte indes auch noch eine zweite Fehlerquelle verbunden sein, die ihre Ursache in der Anwendungsweise der Methode selbst hat. Indem die Bakterien direkt unter die Einwirkung der kombinierten Lösung geraten, kann dies zur Folge haben, dass die plasmolysierende Wirkung des betreffenden Stoffes besonders in den ersten Augenblicken der Wahrnehmung geringer als gewöhnlichenfalls gefunden wird, weil zu jenem Augenblick die osmotische Wirkung des Rohrzuckers noch nicht ihren Höhepunkt erreicht haben dürfte (vgl. Bärlund 1929, S. 28). — Bei den Versuchen stellte ich fest, dass die Bakterien eine übermässig starke Plasmolyse nicht vertrugen, weshalb ich von der Anwendung sehr hoher Lösungskonzentrationen absehen musste.

Doch, obwohl durch die Kleinheit der Bakterienzellen der Bestimmung des Permeationsvermögens rasch oder mässig rasch permeierender Stoffe erhebliche Schwierigkeiten in den Weg gelegt werden, ist dieselbe Kleinheit der Zellen andererseits, beim Studium langsam permeierender Stoffe, wie z. B. des Rohrzuckers, von grossem Nutzen. Ganz besonders ist der Umstand zu betonen, dass die Möglichkeit einer beeinträchtigenden Einwirkung solcher Fehlerquellen wie der Anatonose- und Katatonoseerscheinungen infolge des raschen Rückgangs der Plasmolyse auch bei den langsam permeierenden Stoffen aller Wahrscheinlichkeit nach sehr gering ist.

Beeinflussung der Permeabilität durch die Plasmolyse. Das Diffusionsgesetz von Fick. — Die hier darzulegenden Versuche mit *B. paracoli* bezweckten ursprünglich — auf Anstoss der Arbeiten Webers (1932) sowie Huber & Schmidts (1933) — einen gegenseitigen Vergleich der »Plasmolyse- und Normalpermeabilität». Eine spätere eingehende Betrachtung der Ergebnisse gab jedoch an die Hand, dass diese nicht nur für eine innerhalb der Fehlergrenzen gleich rasche Permeation (des Rohr- und Traubenzuckers sowie des Mannits) in die plasmolysierten und unplasmolysierten Zellen zeugten (vgl. Huber & Schmidt l. c.; Schmidt 1936), sondern zugleich auch

zu der Schlussfolgerung berechtigten, das Eindringen dieser Stoffe in die Bakterienzellen beruhe lediglich auf einem einfachen Diffusionsvorgang.

Die Ausführungsweise der Versuche geht aus folgendem Beispiel hervor:

V e r s u c h 1 a. — Die Bakterien lagen zuerst in einer 0.25-mol. (hypertonischen) Rohrzuckerlösung, bis das Stadium der Grenzplasmolyse erreicht war, was nach 6 Minuten geschah. Bei einem ursprünglichen Rohrzuckerwert 0.19 GM der Zellen beträgt also die in dieser Zeit in die Zellen eingedrungene Menge 0.25–0.19 = 0.06 GM, entsprechend 24 % des ursprünglichen Konzentrationsgefälles. Auf dieser Grundlage und unter der Voraussetzung, dass das Eindringen des Rohrzuckers in die Bakterienzellen nach den Diffusionsgesetzen stattfindet, lässt sich die in 1 Minute in die plasmolysierten Bakterienzellen permeierte Menge zu 4.5 %, in 5 Minuten zu 21 % und in 10 Minuten zu 38 % des Konzentrationsunterschiedes des Rohrzuckers (nach Kurve I bei Collander & Bärlund 1933, S. 27) berechnen. — V e r s u c h 1 b stellt einen Parallelversuch des obigen Versuches dar, unterscheidet sich aber von diesem dadurch, dass die Zellen zuerst für 10 Minuten in 0.2 ccm einer 0.15-mol., also hypotonischen Rohrzuckerlösung gelegt wurden. Wäre nun die Permeabilität dieser unplasmolysierten Zellen die gleiche wie diejenige der plasmolysierten Zellen des Parallelversuches, so müssten in der angegebenen Zeit 38 % von 0.15 GM oder also 0.057 GM Saccharose in die Zellen eingedrungen sein. Jetzt wurden der Lösung 0.2 ccm 0.35-mol. Saccharoselösung zugesetzt, wodurch sich die Konzentration der Mischung auf 0.25 GM erhöhte. Diese Konzentrationserhöhung verursachte eine Plasmolyse, doch schon 1 Minute später war die Grenzplasmolyse erreicht. In dieser Zeit müssten gemäss dem Obigen 4.5 % der Differenz 0.25–0.057 GM, d.h. 0.009 GM permeiert sein, während der totalen Dauer des Versuches also 0.057 + 0.009 = 0.066 GM. Der Versuch ergab 0.25–0.19 = 0.06 GM. Diese Übereinstimmung zwischen dem theoretisch berechneten und dem experimentell ermittelten Wert zeigt — sofern es sich nicht um einen blossen Zufall handelt — erstens, dass das Eindringen der Saccharose in die Bakterienzellen den Diffusionsgesetzen folgt, und zweitens, dass die Durchlässigkeit der plasmolysierten Bakterienzellen innerhalb der Fehlergrenze mit derjenigen der unplasmolysierten übereinstimmt.

Tabelle 1 dürfte an Hand des obigen Beispiels verständlich sein.

Die Versuche 1–2 wurden mit Rohrzucker, die Versuche 3–5 mit Traubenzucker ausgeführt. Bei Versuchen dieser Art habe ich mich wegen der grossen Übereinstimmung der verschiedenen Versuchsreihen stets nur mit der Wiedergabe einer einzigen Versuchsreihe begnügt.

In betreff des Traubenzuckers sei erwähnt, dass in einer 0.30-mol. Traubenzuckerlösung die Grenzplasmolyse in 9 Minuten erreicht

Tabelle 1. Vergleich der Plasmolyse- und Normalpermeabilität an *B. paracoli*-Zellen.

Versuch	Zeit	Konzentrationsgefälle	In die Zellen eingedrungene Menge berechnet		gefunden
1	10′	0.15 GM	$\frac{38 \cdot 0.15}{100} = 0.057$	0.066 GM	$0.25-0.19 = 0.06$ GM
	1′	$0.25-0.057 = 0.193$ GM	$\frac{4.5 \cdot 0.193}{100} = 0.009$		
2	10′	0.15 GM	0.057		
	5′	$0.25-0.057 = 0.193$ GM	$\frac{21 \cdot 0.193}{100} = 0.041$	0.151 GM	$0.35-0.19 = 0.16$ GM
	5′	$0.35-0.098 = 0.252$ GM	$\frac{21 \cdot 0.252}{100} = 0.053$		
3	5′	0.20 GM	$\frac{22 \cdot 0.20}{100} = 0.044$	0.111 GM	$0.30-0.19 = 0.11$ GM
	[illegible]	[illegible]	$\frac{26 \cdot 0.256}{100}$ 0.067		
4	10′	0.20 GM	$\frac{40 \cdot 0.20}{100} = 0.080$	0.120 GM	$0.30-0.19 = 0.11$ GM
	1′	$0.30-0.080 = 0.220$ GM	$\frac{18 \cdot 0.220}{100} = 0.040$		
5	20′	0.20 GM	$\frac{63.5 \cdot 0.20}{100} = 0.127$		
	10′	$0.30-0.127 = 0.173$ GM	$\frac{40 \cdot 0.173}{100} = 0.069$	0.206 GM	$0.40-0.19 = 0.21$ GM
	1′	0.204 GM	$\frac{5 \cdot 0.204}{100} = 0.010$		

wurde, in dieser Zeit sind also $0.30-0.19 = 0.11$ GM oder 37% von der ursprünglichen Konzentration des Traubenzuckers in die Bakterienzellen eingedrungen. Aus dem oben Angeführten ergibt sich als

permeierte Menge in 1 Minute 5 %, in 4 Minuten 18 %, in 5 Minuten 22 %, in 6 Minuten 26 %, in 10 Minuten 40 % und in 20 Minuten 63.5 % von der Konzentrationsdifferenz des Traubenzuckers.

Ein Vergleich der in Tab. 1 mitgeteilten, nach dem Fickschen Diffusionsgesetz berechneten Werte sowie der ausschliesslich experimentell erzielten Resultate lässt als Ganzes betrachtet eine überraschend grosse Übereinstimmung erkennen. Kleinere Unterschiede, die vielleicht von den eingangs erwähnten, die Versuchsergebnisse beeinflussenden Fehlerquellen herrühren können, sind allerdings vorhanden. Betrüge z. B. der Rohrzuckerwert des Zellsaftes statt des in den Versuchen gebrauchten Wertes 0.19 GM beispielsweise 0.20 oder 0.18 GM, so würde die Permeation im ersteren Falle langsamer, im letzteren hingegen rascher als berechnet ablaufen, und der Fehler in den erhaltenen Zahlenwerten beliefe sich dann auf 3.5–7 %. Würde ferner der Plasmolysegrad 50 % im ersten Versuch um 1 Minute früher oder ebensoviel später eintreten, als in den Berechnungen angenommen ist (ein so grosser Unterschied ist indes kaum wahrscheinlich), so wären die errechneten Werte um 4–8.5 % entweder zu hoch oder zu niedrig. — Die konstatierten Unterschiede liegen schon innerhalb dieser Fehlergrenzen.

Zu entsprechenden Ergebnissen führten auch die hier nicht mitgeteilten Versuche mit Mannit.

Es ist auf Grund der obigen Ergebnisse also offenbar, dass die Permeation der Saccharose und Glukose wie auch des Mannits den Fickschen Diffusionsgesetzen folgt. Diese Feststellung ist insofern interessant, als gleiches bisher fast einzig (s. jedoch Marklund 1936, Fig. 15, S. 70) für das Glyzerin und den Harnstoff sowie für Stoffe mit noch grösserem Permeationsvermögen nachgewiesen worden ist (Bärlund 1929; Collander & Bärlund 1933; Marklund 1936).

Es sei mir in diesem Zusammenhang gestattet, auf eine von Ruhland & Hoffmann (1925) geäusserte Behauptung bezüglich der Permeation gelöster Stoffe in *Beggiatoa*-Zellen einzugehen. Die genannten Autoren schreiben: »Es liess sich jedoch feststellen, *dass mit steigendem Konzentrationsgefälle die in der Zeiteinheit aufgenommenen Salzmengen abnahmen.* Das Permeieren kann also nicht in einer einfachen Diosmose bestehen» (l. c., S. 32; s. auch S. 39, wo eine ähnliche Behauptung in bezug auf die Anelektrolyte vorge-

bracht wird). Nun ist aber diese prinzipiell überaus wichtige Behauptung bloss auf solchen Versuchsresultaten aufgebaut worden, die durch einige von den Autoren unberücksichtigt gelassene Fehlerquellen erheblich beeinflusst sind. Man hat sich nämlich zu erinnern, dass bei *Beggiatoa* ebenso wie auch z. B. bei *Rhoeo* die beschränkte Wasserpermeabilität des Plasmas in Verbindung mit der diffusionshemmenden Wirkung der Zellwand, ferner (bei Anelektrolyten) der Unterschied zwischen dem faktischen und dem theoretisch berechneten osmotischen Wert des untersuchten Stoffes besonders im Anfang des Versuches dahin wirken, dass es den Anschein hat, als permeiere der betr. Stoff rascher, als es tatsächlich der Fall ist. (Bezüglich der Elektrolyte äussern sich dagegen, veranlasst durch ihre Dissoziation, die Wirkungen der letztgenannten Fehlerquelle noch komplizierter.) Es scheint demnach kein Grund zu der Annahme vorzuliegen, die Permeation wäre nicht auch bei *Beggiatoa* durch einen Diffusionsvorgang veranlasst.

Da sich die auf seine Ergebnisse mit *Chaetomorpha* gründenden Schlussfolgerungen Hoffmanns (1936) dem Obigen eng anschliessen, dürfte ihre Besprechung gerade hier am Platze sein können. Auf Grund der Ergebnisse des Glyzerinversuches, in welchem sich als Permeationskonstanten für das Glyzerin nach 5 Minuten 0.362, nach 20 Minuten 0.0942, nach 30 Minuten 0.0672 und nach 45 Minuten 0.0468 ergaben, sowie an Hand der in Tab. 7 (l. c., S. 154) zusammengefassten Resultate äussert Hoffmann (S. 155): »Wir werden also bei aller Vorsicht zu dem Schluss geführt, dass bei *Chaetomorpha* die Plasmapermeabilität bei Beginn der Versuche erheblich grösser ist als im weiteren Verlauf. Dabei scheint die Herabsetzung ziemlich rasch nach Beginn zu erfolgen.»

Diese Versuchsergebnisse finden eine Parallele z. B. in den Untersuchungen an *Rhoeo* von Bärlund (1929, Taf. IX, S. 66) und in der vorliegenden Arbeit in den Untersuchungen an *Licmophora* (Abb. 2, S. 45) und *Spirogyra* (Abb. 4, S. 56). Derartige Feststellungen berechtigen indes noch nicht ohne weiteres zu Schlussfolgerungen in der Art von Hoffmann hinsichtlich der Plasmapermeabilität, denn bevor das geschehen kann, müssen alle etwa in Frage kommenden Fehlerquellen gründlich klargelegt sein. Man hat nämlich zu berücksichtigen, dass auch, nachdem der osmotische Gleichgewichtszustand zwischen dem Zellinhalt und der Aussenlösung schon erreicht ist und die Konzentration des zu untersuchenden Stoffes an der Oberfläche des Protoplasten praktisch die gleiche ist wie die der übrigen Aussenlösung, noch immer eine Fehlerquelle auf die Versuchsergebnisse einwirkt. Sie hat ihren Ursprung in der Differenz zwischen dem konstatierten osmotischen Effekt des untersuchten Stoffes und dem nach dem Gesetz von van't Hoff berechneten theoretischen Wert. So

lässt sich die Permeation indifferenter Verbindungen in die benutzten Zellen am genauesten erst dann bestimmen, wenn der Einfluss der obigen Fehlerquellen grösstenteils beseitigt ist. Es ist demnach auch höchst wahrscheinlich, dass die Ergebnisse der Dauerversuche HOFFMANNS von den wirklichen Permeabilitätseigenschaften seines Untersuchungsobjekts, *Chaetomorpha*, ein viel richtigeres Bild geben als die Resultate seiner Momentanversuche, weil gerade die letzteren im höchsten Masse von denjenigen Fehlerquellen beeinflusst sein dürften, die den Anschein erwecken, als dringe jeder Stoff rascher als in Wirklichkeit in die Zellen ein.

Nach alledem liegt kein Grund zur Annahme einer abweichenden Permeation der übrigen untersuchten Stoffe in die Bakterienzellen vor.

Die Permeabilitätseigenschaften der untersuchten Bakterien. — Tab. 2. bringt eine Zusammenstellung der maximalen osmotischen Koeffizienten der von mir untersuchten Verbindungen für *Beggiatoa mirabilis* und *Bacterium paracoli*. Auf der Basis der bei SCHÖNFELDER (1931, Tab. 3, S. 437–442) dargelegten Grenzkonzentrationswerte habe ich die maximalen osmotischen Koeffizienten für *Beggiatoa* berechnet (Saccharose = 1.0).

Ein Vergleich der Werte für *Beggiatoa* und *B. paracoli* legt grosse Unterschiede hinsichtlich der Permeabilitätsverhältnisse an den Tag. So verhalten sich der Harnstoff und Methylharnstoff bei den beiden Objekten ganz entgegengesetzt. Weiter ist die Permeation des

Tabelle 2. Maximale osmotische Koeffizienten für *Beggiatoa mirabilis* (berechnet nach Angaben von SCHÖNFELDER) und für *Bacterium paracoli*.

Beggiatoa mirabilis		*Bacterium paracoli*	
Harnstoff	< 0.001	Methylharnstoff	< 0.020
Methylharnstoff	0.020	Urotropin	0.020
Glyzerin	0.022	Harnstoff	0.180
Malonamid	0.029	Glyzerin	0.180
Antipyrin	0.080	Malonamid	0.633
Glykokoll	0.100	Erythrit	0.760
Erythrit	0.200	Methylglukosid	0.806
Glukose	0.334	Glykokoll	0.814
Mannit	0.364	Rhamnose	0.890
Rhamnose	0.400	Glukose	0.905
Saccharose	1.000	Mannit	0.905
		Saccharose	1.000

Harnstoffs im Verhältnis zum Glyzerin bei *Beggiatoa* deutlich rascher als bei *B. paracoli*. Das Antipyrin permeiert bei *Beggiatoa* langsamer als das Glyzerin, bei *B. paracoli* dagegen rascher als dieses (vgl. Fischer 1903, S. 25).

Die konstatierten Permeabilitätsunterschiede haben ihre hauptsächliche Ursache in dem Umstand, dass die Permeation der Verbindungen in die Zellen von *Beggiatoa* bekanntlich an erster Stelle von der Teilchengrösse bestimmt wird, während der Lipoidlöslichkeit hierbei eine geringere Bedeutung zukommt, wohingegen bei *B. paracoli* die Permeation vornehmlich von der Lipoidlöslichkeit abhängig zu sein scheint (Methylharnstoff und Urotropin permeieren nämlich rascher als Harnstoff, Methylglukosid rascher als Glukose). Über die Porenpermeabilität der Plasmahaut von *B. paracoli* geben die Versuche keine genaue Auskunft, sie scheint aber nicht grösser zu sein als bei den meisten anderen pflanzlichen Protoplasten.

Obwohl schon der obige Vergleich uns zu einem allgemeinen Begriff von den Permeabilitätsverhältnissen bei *B. paracoli* verholfen hat, dürfte ein näherer Vergleich der Permeabilitätseigenschaften dieses Bakteriums und derjenigen von *Chara ceratophylla* dessenungeachtet am Platze sein können, indem in dieser Weise die erhaltenen Resultate direkt der vergleichenden Permeabilitätsforschung zugeführt werden. Die *Chara*-Zellen habe ich in meiner vorliegenden Untersuchung zum Hauptvergleichsobjekt deshalb gewählt, weil die an ihnen erzielten Versuchsresultate relativ sicher sind, weil sich in den *Chara*-Zellen der am häufigsten verbreitete Permeabilitätstypus repräsentiert findet und weil die untersuchten Stoffe — abgesehen von wenigen Ausnahmen — in ihrer Gesamtheit einen Teil der an *Chara* untersuchten Verbindungen ausmachen.

Schreitet man dann zu einem quantitativen Vergleich der Permeabilitätsreihen der eben erwähnten Objekte, so hat man sich dabei zunächst die Gründe klarzumachen, auf welchen ein solcher Vergleich fusst. Schon im Jahre 1902 führte Overton aus, wie wichtig es sei, bei der Beurteilung der Plasmapermeabilität Rücksicht auch auf die Zellengrösse zu nehmen. Doch erst nachdem Collander & Bärlund (1933, S. 53) betont hatten, zu wie irreführenden Ergebnissen Permeabilitätsvergleiche führen können, wenn sie ohne Berücksichtigung der relativen Oberflächenentfaltung der Protoplasten ausgeführt werden, haben immer zahlreichere Forscher (Höfler 1934 a, b;

gewissermassen auch Hofmeister 1935; Wahry 1936; Marklund 1936) ihren Vergleich auf die pro Flächeneinheit des Protoplasmas berechnete Permeabilität gegründet. Da in meiner Untersuchung die Zellengrösse der Objekte die grössten Unterschiede aufgewiesen hat, ist dieser Gesichtspunkt für mich von besonderer Wichtigkeit gewesen.

Tab. 3 bringt aus der Schar der von mir untersuchten Verbindungen die berechneten Permeationskonstanten für alle diejenigen Stoffe, für welche ein einem bestimmten Zeitpunkt (t) entsprechender temporärer plasmolytischer Koeffizient, der mit Collander und Bärlund (1926) der ω-Wert genannt wird, einigermassen sicher berechnet werden konnte. Hier wie auch überall sonst habe ich danach gestrebt, den ω-Wert so zu wählen, dass er ein möglichst richtiges Bild von der Permeation der untersuchten Verbindungen in die Zelle gewähre. — Bei der Berechnung der Permeationskonstanten ist als Zeiteinheit stets die Stunde und als Flächeneinheit das Quadratzentimeter benutzt worden. Die untersuchten Bakterienzellen sind von zylindrischer Form, ihr Durchmesser beträgt 0.0001 cm. Wenn man bei der Berechnung der Permeation von den Zellenden absieht, so entspricht einem Kubikzentimeter des Zellvolumens eine Diffusionsfläche von 40,000 cm², und P ist also gleich P' : 40,000.

Ein Blick auf die letzten Kolumnen der Tabelle lehrt, dass eine unerwartet grosse Ähnlichkeit in den Permeabilitätseigenschaften des Bak-

Tabelle 3. Permeabilitätsreihe für *B. paracoli* mit derjenigen für *Chara* (nach Collander & Bärlund) verglichen.

Bacterium				*Chara*	Substanz	Für Glyzerin = 1	
ω	t (Min.)	P′	P·10⁴	P·10⁴		*Bacterium*	*Chara*
0.06	1.5	110	28	40	Harnstoff	1.3	5.4
0.06	2	84	21	7.4	Glyzerin	1	1
0.5	1	42	11	1.4	Malonamid	0.52	0.19
0.5	6	6.9	1.7	0.46	Erythrit	0.081	0.062
0.67	4.5	5.4	1.4	<0.3	Methylglukosid ..	0.067	<0.04
0.67	5	4.9	1.2		Glykokoll	0.057	
0.67	7	3.8	0.95		Rhamnose	0.045	
0.63	8.5	3.2	0.80	<0.3	Glukose	0.038	<0.04
0.63	8.75	3.1	0.78	<0.3	Mannit	0.037	<0.04
0.63	9.75	2.8	0.70	<0.3	Saccharose	0.033	<0.04

teriums und von *Chara* herrscht. Diese Feststellung ist um so erfreulicher, als wir uns der grossen Verschiedenheit dieser beiden Objekte im übrigen bewusst sind. Ferner ist zu bemerken, dass die Permeabilitätseigenschaften beider Objekte nach ganz verschiedenen Methoden ermittelt worden sind, bei *Chara* durch direkte mikrochemische Analyse der eingedrungenen Stoffmengen, bei *B. paracoli* hingegen mit Hilfe des Plasmolyseverfahrens, zu welchem sich mehrere Forscher zweifelnd, einige sogar direkt abweisend gestellt haben (s. Collander & Bärlund 1933, S. 4).

Eine nähere Betrachtung zeigt in den Permeabilitätsreihen der beiden Versuchsobjekte quantitative Unterschiede. Es lässt sich jedoch schwer entscheiden, ob diese als tatsächlich bestehend gelten können oder nur auf Versuchsfehlern beruhen. Zu bemerken ist nämlich, dass sich die *Chara*-Zellen verhältnismässig schlecht zu einer Untersuchung des Permeationsvermögens sehr langsam permeierender Stoffe eignen, während andererseits die an Bakterien erzielten Ergebnisse sämtlich, und zwar besonders die auf rascher permeierende Stoffe bezüglichen, infolge der Natur dieses Versuchsobjekts recht ungenau sind.

Es seien in diesem Zusammenhang auch die Versuchsergebnisse für das Glykokoll erwähnt, die mit denjenigen anderer Forscher für diesen Stoff sowie für andere Aminosäuren gut im Einklang stehen (Schönfelder 1931; Ulrich 1934).

3. ORIENTIERENDE VERSUCHE MIT GRAMPOSITIVEN BAKTERIEN.

Um zu persönlichen Erfahrungen auch an denjenigen Bakterien zu gelangen, die allgemein als unplasmolysierbar betrachtet werden (s. Fischer 1903, S. 25), führte ich nach Abschluss der obigen Versuche auch einige orientierende Versuche mit folgenden grampositiven Bakterien aus: *Bacterium megatherium*, *B. mesentericus fuscus*, *B. cereus*, *Bacillus subtilis* und *Streptothrix hominis* »Göteborg». Es zeigte sich, dass *B. megatherium* und *Streptothrix hominis* in Rohrzuckerlösungen von 0.5 GM und 1.0 GM ebenso wie in einer 1.0-mol. KNO_3-Lösung nicht plasmolysiert wurden, in den beiden letzteren Lösungen aber schmäler als im Wasser und zugleich gewissermassen leidend wirkten. *B. mesentericus* wurde in den genannten

Lösungen ebenfalls nicht plasmolysiert, doch wies das Verhalten der Bakterien in den verschiedenen Lösungen in sofern einen Unterschied auf, als sich die Zellen in der schwächeren Saccharoselösung freudig bewegten, während in der stärkeren schon ein Teil, in der KNO_3-Lösung aber die meisten Zellen ihre Bewegung eingebüsst hatten. Bei *B. cereus* schien sich der Zellinhalt in der stärkeren Saccharoselösung undeutlich plasmolyseähnlich zusammengezogen zu haben; in der KNO_3-Lösung war die Erscheinung noch deutlicher. Bei *B. subtilis* trat in der stärkeren Rohrzuckerlösung eine schöne und deutliche Plasmolyse ein (vgl. Fischer 1895, S. 32, und 1903, S. 25; Miehe 1931, S. 672).

Ausführlichere Plasmolyseversuche nahm ich indessen nur mit *B. subtilis* vor. Im folgenden seien die Resultate dieser Versuche mitgeteilt.

Die Kulturmethode war dieselbe wie vorher, desgleichen die übrigen Versuchsbedingungen. In 1.0-mol. Rohr- und Traubenzuckerlösungen sowie in einer gleich starken Mannitlösung trat eine schöne Plasmolyse ein, in den beiden letzteren Lösungen allerdings etwas schwächer ausgeprägt. Sie hielt in den Zellen ungeschwächt während der ganzen Versuchsdauer (45 Minuten) an. In einer Saccharoselösung zu 0.75 GM war die Plasmolyse schon schwächer und der Plasmolysegrad 50 % oder etwas darüber. In entsprechend starken Traubenzucker- und Mannitlösungen war die Plasmolyse schwach und der Plasmolysegrad deutlich niedriger als 50 %. Deplasmolyse war noch nach 35 Minuten nicht eingetreten. In einer 1.0-mol. Glykokollösung wurde der Plasmolysegrad 50 % ebenfalls nicht erreicht. 1.0-mol. und 1.5-mol. Erythritlösungen bewirkten überhaupt keine Plasmolyse.

Da nun die obigen Versuche zu erkennen gaben, dass die Plasmolyse in den Zellen von *B. subtilis* bei weitem nicht so rasch rückgängig wurde wie bei den vorher untersuchten Bakterien, unternahm ich zur näheren Klärung dieses Verhaltens zwei längere Versuche mit Saccharoselösung:

Versuchsreihe I. – 19. IV. 1934. Temperatur 18.5° C. 14 Stunden alte Kultur.

Die Zellen durften zuerst 10, 20, 30 bzw. 40 Minuten in einer 0.25-mol. Rohrzuckerlösung liegen und wurden dann in eine stärkere zu 1.0 GM übergeführt. Nach 1 Minute erfolgte die erste Beobachtung. Es zeigte sich, dass die Zellen in sämtlichen Versuchen genau in derselben Weise plasmolysiert wurden, als wären sie direkt in die stärkere Rohrzuckerlösung gebracht worden. In einem gleichzeitig ausgeführten Parallelversuch lagen die Zellen zuerst ebenso lange Zeiten in einer 0.5-mol. (hypotonischen) Rohrzuckerlösung, deren

Konzentration dann auf einmal auf 1.0 GM erhöht wurde. Nach 1 Minute war allgemeine Plasmolyse festzustellen. Die Versuchsergebnisse scheinen darauf hinzudeuten, dass der Rohrzucker in 40 Minuten wenigstens nicht in nachweisbaren Mengen in die Zellen von *B. subtilis* permeiert.

Versuchsreihe II. – 20. IV. 1934. Temperatur 18.0° C. 14 Stunden alte Kultur.

In einer 0.75-mol. Rohrzuckerlösung war der Plasmolysegrad etwas über 50 %. Die Zellen lagen zuerst 3 Minuten in der genannten Lösung; dann wurde die Konzentration nach und nach auf 0.375 GM Rohrzucker herabgesetzt, und hier durften die Zellen während 10 Minuten verweilen. Nun erfolgte erneut eine Erhöhung der Konzentration auf 0.75 GM, wobei sich wieder der Plasmolysegrad von etwas mehr als 50 % einstellte. In einem zweiten Versuch lagen die Zellen zuerst 30 Minuten in einer 0.75-mol. Rohrzuckerlösung und waren während dieser ganzen Zeit zu etwas mehr als 50 % plasmolysiert. Eine Herabsetzung der Konzentration auf 0.5 bzw. 0.375 GM Rohrzucker bewirkte in beiden Fällen vollständige Deplasmolyse. Nach 10 Minuten erfolgte wieder eine Erhöhung der Konzentration zurück auf den ursprünglichen Wert. Das Ergebnis: 50 % Plasmolyse. Der Wechsel von Plasmolyse und Deplasmolyse scheint also keinen Einfluss auf die Permeation des Rohrzuckers zu haben.

Zusammenfassend sei über die an grampositiven Bakterien ausgeführten Versuche angeführt, dass von den untersuchten Bakterien *B. cereus* und *B. subtilis* in 1.0-mol. Rohrzucker- und KNO_3-Lösungen plasmolysiert wurden. Die konstatierte Nichtplasmolysierbarkeit der grampositiven Bakterien scheint denn auch eher durch einen mehr als gewöhnlich engen Zusammenhang von Protoplast und Zellwand als durch die grosse Durchlässigkeit derselben bedingt zu sein (vgl. Fischer 1903, S. 25–). Ferner zeigen die Versuchsergebnisse an *B. subtilis*, dass Saccharose, Glukose und Mannit innerhalb der Versuchszeit 10 Minuten nicht in nachweisbaren Mengen in die Zellen zu permeieren scheinen, m. a. W. die *B. subtilis*-Zellen wären für Saccharose, Glukose und Mannit scheinbar viel schwächer durchlässig als die untersuchten gramnegativen Bakterien. Offenbar ruht die Deutung dieser eigentümlichen Versuchsresultate vorläufig noch auf recht unsicherer Grundlage.

III. OSCILLATORIA PRINCEPS UND O. LIMOSA.[1]

Allgemeines. — Wie Höfler (1932) bemerkt hat, bietet das Studium der Plasmapermeabilität der Blaualgen und insbesondere von *Oscillatoria* vom Standpunkt der vergleichenden Protoplasmatik aus vieles von Interesse, zumal es möglich scheint, dass *Oscillatoria*, die mit *Beggiatoa* verwandt sein dürfte, auch in bezug auf ihre Permeabilitätseigenschaften der letzteren ähnlich ist. Bis auf weiteres haben sich jedoch in der Literatur keine anderen Angaben über die Plasmapermeabilität der Blaualgen gefunden als einige ganz kurze und fragmentarische Hinweise auf die Permeabilitätsverhältnisse bei *Oscillatoria*. Schmid (1923) hat nämlich an der auf feuchter Erde vorkommenden *O. Jenensis* die Verkürzung in verschieden starke Saccharose- und Harnstofflösungen gebrachter, mit einem Rasiermesser zerstückelter Fadenbruchstücke studiert und dabei festgestellt, dass in einer 10 %igen Rohrzuckerlösung die Permeation des Rohrzuckers erst nach 22–28 Minuten wahrgenommen werden kann und dass die Regulation des Turgors selbst nach 67 Stunden noch nicht ganz vollendet ist (l. c., S. 400), dass die Zellen dagegen in Harnstofflösungen ihre ursprüngliche Länge sehr rasch wiedererlangen. Dieselbe Arbeit enthält auch Hinweise auf ältere Beobachtungen, in welchen konstatiert wird, dass im Glyzerin und Harnstoff die »Plasmolyse» der *Oscillatoria*-Zellen rasch rückgängig wird und die Zellen binnen kurzer Zeit sich wieder zu ihrer ursprünglichen Länge ausdehnen, Umstände, die als Zeichen einer raschen Permeation gedeutet worden sind. Eine nähere Klarlegung der Permeabilitätseigenschaften von *Oscillatoria* war also wichtig.

Das zur Anwendung gelangte *Oscillatoria princeps*-Material stammte aus dem Flusse Porvoonjoki (bei der Stadt Porvoo östlich von Helsinki), wo die Art im Spätsommer reine Bestände bildend vorkam. Jede zweite Woche holte ich neues Material, das ich dann in mitgebrachtem Standortswasser in grossen

[1] Die Arten sind gütigst von Doz. Dr. C. Cedercreutz bestimmt worden.

Glasgefässen auf dem Fensterbrett meines Arbeitszimmers aufbewahrte. Als dann die Art plötzlich von ihrem Standort verschwand, führte ich noch einige ergänzende Versuche mit der ebenfalls dort vorkommenden *O. limosa* aus.

Versuchsmethodik. — Da die *Oscillatoria*-Zellen in den Lösungen der meisten Stoffe nicht plasmolysiert werden können, die Zellfäden sich dagegen in hypertonischen Lösungen »knicken», ähnlich wie dies auch bei *Beggiatoa* der Fall ist, wurden die Versuche unter Benutzung der von Ruhland & Hoffmann (1925) ausgebildeten »Knickungsmethode» ausgeführt. Bei meiner Arbeit habe ich also zu bestimmten Zeitpunkten den Knickungsgrad der Zellfäden des Versuchsobjekts in der zu untersuchenden Lösung bestimmt. Das Hauptprinzip ist mithin bei diesem Verfahren dasselbe gewesen wie bei der gewöhnlichen grenzplasmolytischen Methode, nur dass hier statt der Plasmolyse die Knickung zur Beobachtung kam. Hierbei habe ich sowohl nach dem »Total-» als dem Partialdruckverfahren gearbeitet (Bärlund 1929, S. 25–; Schönfelder l. c., S. 119).

Die Stammlösungen sowie die Lösungsreihen wurden in der gleichen Weise wie in den Bakterienversuchen hergestellt. Die durch Vorversuche auf ihre Eignung geprüften Konzentrationsdifferenzen der einzelnen Glieder variierten je nach den zu untersuchenden Verbindungen erheblich (1.0–0.01 GM). In den Parallelversuchen wandte ich jedoch nach Möglichkeit die gleichen Konzentrationsdifferenzen an. In der Saccharosereihe betrug die Differenz 0.01 GM. Als Lösungsmittel diente gewöhnliches Leitungswasser, da Vorversuche gezeigt hatten, dass die Zellfäden sich in diesem mindestens eine Woche lang in völlig normalem Zustand erhielten.

Versuche wurden nur mit gut beweglichen *Oscillatoria*-Fäden ausgeführt. Ihre Wahl geschah in der Weise, dass ich am Abend sämtliche Algenfäden in die Mitte einer flachen Glasschale zusammenhäufte und dann am folgenden Morgen vorsichtig eine grössere Portion der während der Nacht aus dem Haufen herausgekrochenen Fäden für die Versuche in eine kleinere Glasschale abteilte.

In den nach dem Totalverfahren ausgeführten Versuchen entnahm ich der kleineren Glasschale eine geeignete Portion beweglicher *Oscillatoria*-Fäden, liess sie vorsichtig auf Filtrierpapier abfliessen und brachte sie dann in die zu untersuchende Lösung. Wenn es die Zeit nur irgend erlaubte, schüttelte ich den Zellhaufen im Versuchsgefäss vorsichtig auseinander. Nach Verlauf einer bestimmten Zeit übertrug ich einen Teil der Zellfäden auf den Objektträger in einen Tropfen der zu prüfenden Lösung. Um ein Zerdrücken der Zellfäden zu verhindern, wurde das Deckgläschen durch untergelegte Deckglasstückchen gestützt (vgl. Schmid 1923, S. 390–). Hiernach erfolgte die Bestimmung des Knickungsgrades, zumeist nach okularer Abschätzung, wobei ich mich auf eine Genauigkeit von 10 % beschränkte. Die temporäre knickungserzeu-

gende Grenzkonzentration der untersuchten Verbindung wurde durch Interpolation berechnet. Für jede Beobachtung wurde dem Versuchsgefäss eine neue Algenportion entnommen.

Bei den Partialversuchen durften die Algenfäden vor ihrer Überführung in die kombinierten Lösungen zwecks sicherer Erreichung des osmotischen Gleichgewichtes zwischen der Aussenlösung und dem Zellinhalt zuerst 5 Minuten in Rohrzuckerlösungen von entsprechender Konzentration liegen. Hiernach wurde wie vorher verfahren. — In sämtlichen Versuchen fanden die Beobachtungen gewöhnlich nach 10 und 30 Sekunden, 1, 2, 4 und 8 Minuten statt.

Vor und nach den Versuchen bestimmte ich den ursprünglichen Rohrzuckerwert der Zellen. Der grösste Unterschied belief sich auf nicht mehr als 0.005 GM Rohrzucker. Während der ganzen Dauer der Versuche schwankte der Rohrzuckerwert der Zellen bei *O. princeps* zwischen 0.136 und 0.158 GM und bei *O. limosa* zwischen 0.182 und 0.203 GM.

Um untereinander vergleichbare Ergebnisse zu bekommen (s. Bärlund 1929, S. 20), untersuchte ich stets zwei oder drei Verbindungen gleichzeitig. Die Stoffe wählte ich so, dass zwei aufeinanderfolgende Versuchsreihen stets wenigstens einen gemeinsamen Stoff enthielten und zugleich die Knickwirkung der Stoffe innerhalb einer Versuchsreihe möglichst gleichartig war. — Nach den eigentlichen Versuchen unternahm ich noch besondere Kontrollversuche zur Ermittlung der eventuellen schädlichen Einwirkung der benutzten Lösungen auf die *Oscillatoria*-Zellen. Hierbei liess ich die Zellfäden doppelt so lange in der zu untersuchenden Lösung liegen wie in den eigentlichen Versuchen. Dann wurden die Fäden für etwas längere Zeit als vorhin in eine geeignete Rohrzuckerreihe gebracht, die sie Schritt für Schritt in absteigender Richtung durchschreiten durften, bis sie schliesslich in reines Leitungswasser gelangten. Einen Teil der Fäden liess ich jedoch in den Lösungen liegen. Nun stellte ich sowohl im Wasser wie auch in den verschiedenen Stufen der Lösungsreihe genaue Beobachtungen über die Bewegungsintensität der Zellfäden als Kriterium ihres Gesundheitszustandes an, desgleichen über die Art und Beständigkeit der Knickungen, an Hand deren sich ebenfalls Schlüsse hinsichtlich des Befindens der Versuchsobjekte ziehen liessen. Gleiches bezweckte an ihrem Teil auch die oft vorgenommene Bestimmung der einem jeden Zeitpunkt des Versuches entsprechenden temporären, Knickung der Fäden bewirkenden Grenzkonzentration sowohl nach dem Total- wie auch nach dem Partialdruckverfahren. Dadurch ergab sich auch die Möglichkeit zu einer Kontrollierung des Einflusses der benutzten höheren Konzentrationen auf die Zellen und

mithin auch auf die Versuchsergebnisse. – Die Temperatur hielt sich während der Versuche recht konstant bei 19.0°–20.0° C (vgl. SCHÖNFELDER 1931, S. 417, Fussnote).

Die Versuchsergebnisse. — Folgendes Versuchsprotokoll bringt in verkürzter Form den Verlauf sämtlicher vollständigen, hauptsächlich an *O. princeps* ausgeführten Versuchsreihen zur Schau:

Versuche mit *O. princeps.*

	7. IX. 34.			Temp. 19.0° C.			C = 0.136 GM.
Zeit	10″	30″	1′	2′	4′	8′	
C_1				0.136	0.136	0.136	GM Saccharose
»				0.144	0.144	0.144	» Glukose
»	0.222	0.172	0.155	0.157	0.165	0.174	» Erythrit

	6. IX. 34.			Temp. 19.0° C.			C = 0.143 GM.
C_1	0.222	0.170	0.157	0.160	0.169	0.180	GM Erythrit
»	0.079	0.064	0.070	0.078	0.091		» S[1] + 0.1 GM Malonamid
»	0.242	0.178	0.189	0.220			» Urotropin

	25. VIII. 34.			Temp. 19.5° C.			C = 0.152 GM.
C_1		0.323	0.458				GM Glyzerin
»	0.067	0.072	0.091	0.110			» S + 0.2 GM Glyzerin
»	0.067	0.072	0.092	0.112			» S + 0.2 GM Harnstoff

	11. IX. 34.			Temp. 20.0° C.			C = 0.136 GM.
C_1		0.096	0.104				GM S + 0.1 GM Glyzerin
»		0.096	0.105				» S + 0.1 GM Harnstoff
»		0.098	0.106	0.117			» S + 0.1 GM Trimethylzitrat
»		0.114					» S + 0.2 GM Diäthylharnstoff
»	0.500						» Diäthylharnstoff
»		0.118					» S + 0.2 GM Methylharnstoff

	[illegible] VIII. 34.			Temp. 19.[illegible] C.			C = 0.[illegible] GM
C_1	0.266	0.291	0.437				GM Glyzerin
»	0.046	0.059	0.081				» S + 0.2 GM Glyzerin
»	1.444	2.643					» Äthylenglykol

[1] S bedeutet hier und im folgenden: »GM Saccharose».

5. IX. 34. Temp. 19.5° C. $C = 0.158$ GM.

Zeit	10″	30″	1′	2′	
C_1	0.050	0.076	0.095		GM S + 0.2 GM Harnstoff
»	0.398	0.667			» Diäthylharnstoff
»	0.098	0.126	0.136		» S + 0.2 GM Diäthylharnstoff
»	0.500	0.806			» Methylharnstoff
»		0.065	0.104		» S + 0.5 GM Methylharnstoff

30. VIII. 34. Temp. 19.0° C. $C = 0.157$ GM.

C_1		0.078	0.092	0.128	GM S + 0.2 GM Trimethylzitrat
»	0.361	0.417			» Antipyrin

31. VIII. 34. Temp. 19.0° C. $C = 0.158$ GM.

C_1		0.128	0.132	GM S + 0.1 GM Trimethylzitrat
»	0.750	0.523	0.736	» Antipyrin
»		0.140	0.146	» S + 0.1 GM Antipyrin

4. IX. 34. Temp. 19.0 C. $C = 0.148$ GM.

C_1	0.725	1.376		GM Butyramid
»		0.050	0.100	» S + 1.0 GM Butyramid
»	1.0	1.420	2.0	» Propionamid
»	0.039	0.088	0.125	» S + 1.0 GM Propionamid
»	1.725			» Azetamid
»	0.109	0.132		» S + 1.0 GM Azetamid

3. IX. 34. Temp. 19.0° C. $C = 0.145$ GM.

C_1	1.225	1.725	2.316	GM Propionamid
»	0.045	0.098		» S + 1.0 GM Propionamid
»		0.085	0.120	» »
»	1.725	2.889		» Azetamid
»	0.110	0.129	0.134	» S + 1.0 GM Azetamid

28. VIII. 34. Temp. 19.0° C. $C = 0.146$ GM.

C_1	1.722	2.824	4.0	GM Äthylenglykol
»	0.109	0.127	0.136	» S + 1.0 GM Äthylenglykol
»	1.809	2.947		» Azetamid
»	0.111	0.133	0.140	» S + 1.0 GM Azetamid

Versuche mit *O. limosa*.

25. IX. 35. Temp. 20.0° C. $C = 0.203$ GM.

Zeit	5′	30′	60′	120′	240′	480′	
C_1	0.203	0.213	0.220	0.228	0.243	0.268	GM Saccharose
»	0.223	0.238	0.248	0.257	0.268	0.296	» Glukose

An Hand der experimentell ermittelten temporären Grenzkonzentrationen habe ich nun nach BÄRLUND (1929, S. 37) die temporären osmotischen (Knickung bewirkenden) Koeffizienten der untersuchten Verbindungen für *O. princeps* ausgerechnet. Die berechneten arithmetischen Mittelwerte finden sich in Tab. 4 zusammengestellt, in welcher die untersuchten Stoffe nach ansteigendem ω-Wert aufgeführt sind. Hier wie auch anderenorts in der vorliegenden Untersuchung werden die ermittelten Ergebnisse aus dem Grunde als arithmetische Mittelwerte wiedergegeben, weil sowohl die physiologischen Eigenschaften der Versuchspflanzen als auch die äusseren Versuchsbedingungen während der Versuche nur geringen Schwankungen unterworfen gewesen sind, und ferner weil ich den mit einer Reduktion der Versuchsergebnisse verbundenen subjektiven Einfluss zu vermeiden wünschte (vgl. BÄRLUND l. c., S. 10; COLLANDER & BÄRLUND 1933, S. 55; MARKLUND 1936, S. 14 und 71).

Tabelle 4. Die temporären osmotischen Koeffizienten für *O. princeps*.

Substanz	*O. limosa*	*O. princeps*						
	0	0	10″	30″	1′	2′	4′	8′
Azetamid	0.028	0.062	0.062	0.031	0.011	—	—	—
Äthylenglykol	0.030	0.074	0.074	0.037	0.015	—	–	
Propionamid	0.013	0.116	0.116	0.074	0.013	—	—	
Butyramid	0.050	0.204	0.204	0.104	0.050	—	—	
Methylharnstoff	0.053	0.316	0.316	0.165	0.088	-		
Diäthylharnstoff	0.050	0.357	0.357	0.181	0.107	—	—	—
Antipyrin	0.091	0.360	0.360	0.290	0.165	—	—	—
Trimethylzitrat	0.150	0.361	—	0.361	0.305	0.156		
Harnstoff	0.263	0.484	0.484	0.401	0.315	0.201		
Glyzerin	0.279	0.506	0.506	0.435	0.332	0.212	—	
Urotropin	0.391	0.770	0.565	0.770	0.744	0.623	–	
Malonamid	0.467	0.790	0.640	0.790	0.730	0.650	0.520	
Erythrit	0.758	0.894	0.628	0.816	0.894	0.870	0.835	0.794
Glukose	0.910	0.951	—	—		0.951	0.951	0.951
Saccharose	1.000	1.000	—			1.000	1.000	1.000

Fehlerquellen. — Bevor man sich an eine nähere Auseinandersetzung der Permeabilitätsverhältnisse von *Oscillatoria* an Hand der Versuchsergebnisse machen kann, müssen sämtliche Fehlerquellen, die speziell in diesem Fall in Frage kommen können, einer Betrachtung unterzogen werden.

Da die Plasmapermeabilität bei *Oscillatoria* besonders gross ist, dünkt es recht wahrscheinlich, dass die experimentell konstatierte Zellpermeabilität wenigstens zum Teil auch von der beschränkten Durchlässigkeit der Zellwand beeinflusst wird. Es war also in diesem Fall besonders wichtig, sich einen detaillierteren Begriff von der diffusionshemmenden Wirkung der Zellwand bilden zu können. Zu diesem Zweck führte ich mit in Chloroformwasser getöteten Zellfäden[1] ähnliche Versuche wie mit lebenden Algen aus, wobei ich mich jedoch in den meisten Fällen auf eine Bestimmung der Grenzkonzentration der untersuchten Verbindungen beschränkte. Weil ich später im Herbst 1934 und auch im folgenden Sommer nicht mehr *O. princeps* erhalten konnte, unternahm ich systematische Versuche mit *O. limosa*. Diese führten zu ähnlichen Ergebnissen wie vorher die orientierenden Versuche mit *O. princeps*.

Die in der dritten Kolumne der Tabelle 5 für lebende Fäden dargelegten Grenzkonzentrationen sind an Hand der in der nächstfolgenden Kolumne wiedergegebenen experimentell ermittelten durchschnittlichen osmotischen Koeffizienten sowie des in Kolumne 3 be-

Tabelle 5. Die maximalen osmotischen Koeffizienten für lebende und tote Zellfäden von *O. limosa*.

Substanz	MR_D	Lebende Fäden		Tote Fäden	
		Grenzkonzentration GM	o	Grenzkonzentration GM	o
Harnstoff	13.7	0.692	0.263	$>>4.0$	$<<0.007$
Äthylenglykol	14.4	6.065	0.030	$>>4.0$	$<<0.007$
Methylharnstoff	18.5	3.435	0.053	>4.0	<0.007
Glyzerin	20.6	0.652	0.279	4.0	0.007
Butyramid	24.1	3.640	0.050	1.0	0.028
Erythrit	26.8	0.240	0.758	0.9	0.031
Urotropin	38.8	0.465	0.391	0.240	0.117
Glukose	37.5	0.200	0.910	0.210	0.133
Trimethylzitrat	50.3	1.213	0.150	0.164	0.171
Antipyrin	56.1	2.0	0.091	0.163	0.172
Saccharose	70.4	0.182	1.0	0.028	1.0

[1] Die Fäden lagen 5 Minuten in chloroformgesättigtem Wasser, danach erfolgte Spülung in Leitungswasser (vgl. Ruhland & Hoffmann 1925, S. 34; Hoffmann 1936, S. 141).

findlichen Rohrzuckerwertes 0.182 GM des Zellinhalts berechnet worden. Dagegen ist die Bestimmung der in Kolumne 5 mitgeteilten Grenzkonzentrationen auf experimentellem Wege erfolgt.

Ein Blick auf die Tabelle lässt erkennen, dass das Eindringen der untersuchten Stoffe in die abgetöteten *Oscillatoria*-Fäden wie bei den abgetöteten Zellen von *Beggiatoa* (Ruhland & Hoffmann 1925, Tab. 17, S. 53)[1] und *Chaetomorpha* (Hoffmann 1936, Tab. 2, S. 142) ausschliesslich von der Teilchengrösse dieser Verbindungen abhängig zu sein scheint, d. h. grossmolekulare Verbindungen permeieren am langsamsten durch die Zellwand hindurch. Zwischen den für lebende und tote Zellfäden ermittelten Permeabilitätsreihen bestehen keinerlei allgemeine gemeinsame Züge, m. a. W. das Auftreten der Knickungen und ihre zeitliche Dauer beruhen im Falle der lebenden Fäden in erster Linie auf den Permeabilitätsverhältnissen des Plasmas (s. Collander & Bärlund 1933, S. 36–). Zu unserer Überraschung stellen wir jedoch fest, dass sich für einige Verbindungen (Butyramid, Trimethylzitrat, Antipyrin) sowohl bei toten als bei lebenden Fäden fast die gleichen maximalen osmotischen Koeffizienten ergeben. Dies gibt Anlass zu einer eingehenderen Klarlegung sowohl der diffusionshemmenden Wirkung der Zellwand wie auch zugleich der Beeinflussung der an lebenden Fäden erhaltenen Versuchsresultate durch die Wasserpermeabilität des Protoplasmas.

In den Versuchen mit lebendem Material macht man bei gewissen Verbindungen (Saccharose, Glukose, Erythrit, Malonamid, Urotropin, undeutlicher bei Trimethylzitrat und Antipyrin) regelmässig die Beobachtung, dass die maximale knickungserzeugende Wirkung der Aussenlösung sich erst nach einer bestimmten Zeit einstellt, beim Rohrzucker binnen 2 Minuten, bei den übrigen schon früher. Das bedeutet, dass zur Erreichung des osmotischen Gleichgewichtszustandes zwischen Aussenlösung und Zellinhalt beim Rohrzucker mindestens 2 Minuten erforderlich sind. Unter diesen Umständen scheinen Auftreten und Dauer des zunehmenden Knickungsgrades

[1] Es sei mir in diesem Zusammenhang gestattet, auf einen Widerspruch in den Werten der Tabellen 16 und 17 bei Ruhland & Hoffmann (l. c., S. 52 u. 53) aufmerksam zu machen. In den Kolumnen 2 und 5 der ersteren Tabelle wird als Grenzkonzentration für Saccharose 0.000680 GM, für Glukose 0.00075 GM und für Arabinose 0.015 GM angegeben, in Tab. 17 dagegen 0.0068, 0.0075 bzw. 0.015. GM.

sowohl von der Wasserpermeabilität des Protoplasmas als vor allem von der Zellwand-Protoplasmapermeabilität für die untersuchten Verbindungen, die Dauer des abnehmenden Knickungsgrades wiederum von der letzteren bedingt zu sein.

Da nun die an toten Zellfäden ausgeführten Versuche eine deutliche diffusionshemmende Einwirkung der Zellwand in bezug auf das Butyramid und dieses an Molekülgrösse übertreffende Verbindungen an den Tag legen, am deutlichsten jedoch in bezug auf solche, deren $MR_D = > 30$, macht sich dieser Umstand als Fehlerquelle am stärksten gerade in den mit diesen Stoffen erhaltenen Ergebnissen bemerkbar, und zwar desto mehr, je langsamer der betr. Stoff durch die Zellwand und je rascher er durch das Protoplasma permeiert. Deshalb ist es äusserst wahrscheinlich, dass die knickungserzeugende Wirkung des Butyramids, Diäthylharnstoffs, Trimethylzitrats sowie des Antipyrins in der Hauptsache von der begrenzten Zellwandpermeabilität der *Oscillatoria*-Zellen herrührt: wäre diese grösser, so würden diese Verbindungen wahrscheinlich viel rascher in die Zellen eindringen.

Bei meiner Arbeit habe ich beobachten können, dass durch einen lange andauernden, desgleichen auch durch einen übermässig kräftigen Knickungszustand den Zellen Schaden zugefügt wurde, ferner dass einige der untersuchten Verbindungen in den Zellen mikroskopisch wahrnehmbare Veränderungen verursachten. Besonders fiel die erheblich grössere Empfindlichkeit der *O. princeps*-Fäden auf. So unterlagen sie in mehr als 15 Minuten dauernden Versuchen mit Saccharose- und Glukoselösungen stets einer immer mehr zunehmenden Knickung, verbunden mit einer Herabsetzung der Grenzkonzentration und einer beginnenden Loslösung des Zellinhalts von den Längswänden, also einer Plasmolyse (vgl. Schmid 1923, S. 388–), während sich die *O. limosa*-Fäden in den obigen Lösungen viel länger (4 Stunden) normal erhielten. Ferner trat bei *O. princeps* in höheren Konzentrationen der meisten verwendeten Lösungen (1.0-mol. Azetamid, Äthylenglykol, Propionamid, 1.0-mol. Glyzerin und 0.25-mol. Erythrit) neben der Knickungserscheinung auch Plasmolyse ein. — An *O. limosa* wurden entsprechende Versuche nicht ausgeführt.

Eine besondere Gruppe für sich bilden der Harnstoff und das Malonamid. Die Lösungen des erstgenannten (ohne Zuckerzusatz) bewirkten niemals eine Knickung der *Oscillatoria*-Fäden, wohl aber

Plasmolyse bei beiden Arten. Im Malonamid trat anfangs (30 Sekunden bis 1 Minute vom Versuchsbeginn) Knickung ein, dann stets Plasmolyse. In den schwächeren Lösungen dieser Stoffe bewegten sich die Zellfäden noch nach vollzogener Deplasmolyse, und diese war oft ein völlig ebenso gutes Mass der Permeation wie die Aufhebung des Knickungszustandes. Eine nähere Entscheidung der auf die Plasmolyseerscheinung einwirkenden Ursachen ist schwierig, weil sich das Beobachtungsmaterial aus zu ganz anderen Zwecken ausgeführten Untersuchungen ergeben hat. Es lässt sich indes denken, dass in einigen Fällen der gelöste Stoff schädigend auf die Zellen einwirkt, wonach die Erscheinung als Zeichen eines Krankheitszustandes zu deuten wäre, ferner dass der Zusammenhang zwischen Plasmahaut und Zellwand gelockert wird, so dass schliesslich die Zellwand bei dem Bestreben des Zellinhalts, sich immer stärker zusammenzuziehen, nicht mehr mitzufolgen imstande ist, sondern eine gewaltsame Ablösung des Protoplasmas von der Zellwand, ein Reissen die Folge ist.

Ferner hat sich bei den Versuchen die Beobachtung ergeben, dass in stärkeren (1.0 GM) Antipyrinlösungen eine Braunfärbung des Zellinhalts schon nach 1 Minute eintritt, in noch stärkeren (>2.0 GM) Azetamid- und Propionamidlösungen wahrnehmbar erst nach 5 Minuten, wobei der Farbenwechsel in der letztgenannten Lösung deutlicher und einigermassen schneller ist. In Harnstoff und Urotropin beginnt sich nach 10 Minuten eine schwache Trübung des Zellinhalts bemerkbar zu machen (vgl. S. 57). Als weitere Beobachtung sei erwähnt, dass Zellfäden, die längere Zeit (30 Minuten) in verschiedenen Lösungen plasmolysiert oder in Harnstoff- oder Urotropinlösungen deplasmolysiert (die Deplasmolyse trat binnen 1 Minuten ein) gelegen hatten, reichlich ausgebuchtete Querwände, d. h. spindelförmige Zellen aufwiesen.

Auf Grund der obigen Beobachtungen galt es, möglichst unschädliche Lösungen zu wählen, und auch die Versuchszeit durfte nicht zu lange ausgedehnt werden. So arbeitete ich in den Harnstoff- und Malonamidversuchen auch ausschliesslich mit kombinierten Lösungen, die wohl Knickung der Fäden, aber keine Plasmolyse bewirkten. Nach jedem Versuch wurde der Gesundheitszustand der Zellen kontrolliert. In den arithmetischen Mittelwertsberechnungen haben nur solche Versuchsergebnisse Berücksichtigung gefunden, die an

normal aussehenden und völlig bewegungsfähigen Algenfäden erhalten wurden.

Die Permeabilitätseigenschaften. — Obwohl sich an Hand der erhaltenen Versuchsergebnisse schwer nachweisen lässt, dass die Permeation der untersuchten Verbindungen in die Zellen von *Oscillatoria* einen einfachen Diffusionsvorgang darstelle, habe ich bei der Berechnung der Permeationskonstanten einfach einen Verlauf des Permeationsprozesses nach dem Fickschen Diffusionsgesetz angenommen, dies aus dem Grunde, weil sämtliche mit Anelektrolyten ausgeführte Untersuchungen, ferner auch einige auf *Oscillatoria* bezügliche Beobachtungen der vorliegenden Untersuchung für die Gültigkeit dieser Annahme sprechen. Einzelne Versuche (Äthylenglykol, Glyzerin) haben nämlich zu der Feststellung geführt, dass die Permeation eines Stoffes in die Zelle und aus dieser heraus mit derselben Geschwindigkeit stattfindet (vgl. Bärlund 1929, S. 82).

Tab. 6 bringt eine Zusammenstellung sämtlicher für *O. princeps* berechneten Permeationskonstanten. Bei einer Breite der Zellen von $0.^{0042}$ cm und einer Länge von $0.^{0005}$ cm entspricht einem Kubik-

Tabelle 6. Permeabilitätsreihe für *O. princeps* mit denjenigen für *Beggiatoa* (nach Angaben von Ruhland & Hoffmann berechnet von Marklund) und *Chara* (nach Collander & Bärlund) verglichen. Ein * gibt an, dass die betreffenden Werte infolge der diffusionshemmenden Wirkung der Zellwand wahrscheinlich zu klein ausgefallen sind.

Oscillatoria				*Beggiatoa*	*Chara*	Substanz	Für Glyzerin = 1		
ω	t (Min.)	P'	$P \cdot 10^4$	$P \cdot 10^4$	$P \cdot 10^4$		*Oscillatoria*	*Beggiatoa*	*Chara*
0.01	1	270	540		530	Azetamid	5.8		72
0.02	1	250	500	500	430	Äthylenglykol .	5.4	1.3	58
0.04	1	190	380	420	1300	Propionamid . .	4.1	1.1	180
0.05	1	180*	360*		1700	Butyramid	4*		230
0.09	1	150	300	420	68	Methylharnstoff	3.2	1.1	9.2
0.11	1	130*	260*		590	Diäthylharnst.	2.8*		80
0.17	1	110*	220*		2200	Antipyrin	2.4*		300
0.16	2	57*	110*	100	2400	Trimethylzitrat	1.2*	0.26	320
0.20	2	48	96	570	40	Harnstoff	1	1.5	5.4
0.21	2	46	92	380	7.4	Glyzerin	1	1	1
0.62	2	14	28		26	Urotropin	0.31		3.5
0.52	4	9.8	20		1.4	Malonamid	0.21		0.19
0.79	8	1.7	3.4	300	0.46	Erythrit	0.038	0.79	0.062

zentimeter des Zellvolumens eine Diffusionsfläche von 5,000 cm², und es ist also $P = P' : 5{,}000$ unter der Voraussetzung einer gleichen Protoplasmapermeabilität der ganzen Zelloberfläche (vgl. allerdings Schmid 1923, S. 365–).

In Tab. 7 sehen wir die berechneten Permeationskonstanten einiger am langsamsten permeierenden Verbindungen für *O. limosa*. Bei dieser Art ergaben die Grössenmessungen als Breite der Zellen 0.0018 cm und als Länge 0.0003 cm. Als Diffusionsfläche pro 1 cm³ des Zellinhalts ergibt sich aus diesen Werten 8,900 cm², mithin ist $P = P' : 8{,}900$.

Tabelle 7. Permeabilitätsreihe für *O. limosa* mit denjenigen für *Beggiatoa* (nach Angaben von Ruhland & Hoffmann berechnet von Marklund) und *Chara* (nach Collander & Bärlund) verglichen.

Substanz	*Oscillatoria*				*Beggiatoa*	*Chara*
	ω	t (Min.)	P′	P · 10⁴	P · 10⁴	P · 10⁴
Urotropin	0.5	0.5	83	93		26
Malonamid	0.5	1	42	47		1.4
Erythrit	0.5	10	4.2	4.7	300	0.46
Glukose	0.76	240	0.070	0.079	100	< 0.3
Saccharose	0.84	240	0.045	0.051	49	< 0.3

Die in beiden Tabellen befindlichen Permeationskonstanten für *Beggiatoa* sind zum grössten Teil der Tabelle 12 bei Marklund (1936, S. 85) entnommen, doch habe ich sie für meine Tabellen etwas abgerundet. Die Permeationskonstante der Glukose ist nach Marklund an Hand der Ergebnisse der »5 Minuten-Versuche» Ruhland & Hoffmanns (1925, Tab. 11, S. 43) berechnet worden, während die Permeationskonstanten des Propionamids und Trimethylzitrats unter der Annahme einer gleichen Permeationsgeschwindigkeit dieser Stoffe und derjenigen mit genau oder fast genau der gleichen Grenzkonzentration erhalten wurden (s. Schönfelder 1931, Tab. 3, S. 437 –).

Beim gegenseitigen Vergleich der Permeabilitätsreihen für *Beggiatoa*, *Oscillatoria* und *Chara* (Tab. 6) fällt vor allem auf, dass sämtliche untersuchte Stoffe in die Zellen der beiden erstgenannten Objekte mit sehr gleichmässiger Schnelligkeit permeieren, und zwar

ist dies bei *Beggiatoa* in noch höherem Grade als bei *Oscillatoria* der Fall. So dringt das Propionamid, das in die Zellen von *Chara* 180mal rascher permeiert als Glyzerin, in die Zellen von *Oscillatoria* nur 4.3mal und in diejenigen von *Beggiatoa* sogar nur 1.1mal rascher als das Glyzerin ein, ein sprechendes Beispiel dafür, dass die relative Lipoidlöslichkeit der Stoffe, durch welche in erster Linie ihr Permeationsvermögen in bezug auf *Chara* bestimmt wird, als permeationsbestimmender Faktor zurücktritt, wenn es sich um *Oscillatoria* handelt, und im Falle von *Beggiatoa* sogar noch mehr an Bedeutung verliert. Umgekehrt nimmt wiederum die Bedeutung der Molekülgrösse in der Ordnungsfolge *Chara* — *Oscillatoria* — *Beggiatoa* zu. So permeiert Harnstoff in die Zellen von *Beggiatoa* 1.4mal rascher als Methylharnstoff und sogar etwas rascher als Azetamid und Äthylenglykol. Bei *Oscillatoria* gestalten sich die Verhältnisse normaler, indem das Azetamid und Äthylenglykol etwa 5.5mal und der Methylharnstoff etwa 3mal rascher als der Harnstoff permeieren; ähnlich ist das Verhältnis auch bei *Chara*. Das Glyzerin permeiert bei *Beggiatoa* 1.5mal langsamer als der Harnstoff; bei *Oscillatoria* lässt sich diesbezüglich kein deutlicher Unterschied feststellen. Das Trimethylzitrat permeiert bei *Beggiatoa* 4mal langsamer als das Glyzerin, während bei *Oscillatoria* ausgeprägt das umgekehrte Verhältnis zu herrschen scheint.

Ein vielleicht noch deutlicherer Unterschied zwischen *Beggiatoa* und *Oscillatoria* tritt uns in der absoluten Grösse der Permeabilität entgegen. Das Glyzerin permeiert bei *Beggiatoa* 4mal, der Harnstoff 6mal, das Erythrit 60–90mal und die Zuckerarten (Tab. 7) etwa 1,000mal rascher als bei *Oscillatoria*.

Die Erklärung der beobachteten Unterschiede in der Permeationsgeschwindigkeit fällt in bezug auf den Rohrzucker und das Erythrit nicht schwer, wenn man annimmt, dass grosse Poren sehr viel spärlicher in der Plasmahaut von *Oscillatoria* als in der von *Beggiatoa* vorkommen, ebenso auch nicht in bezug auf das Glyzerin und den Harnstoff, wenn wir ausserdem annehmen, dass die Gesamtporendichte bei *Oscillatoria* etwas geringer ist als bei *Beggiatoa*.

Überdies ist es denkbar, dass die zwischen den beiden Objekten bestehenden Permeabilitätsdifferenzen nicht ausschliesslich von der oben erörterten Verschiedenheit ihrer Plasmahäute herrühren, sondern zu einem Teil auch von dem verschiedenen gegenseitigen Ver-

hältnis der hydrophilen und hydrophoben Radikalen der Plasmahautlipoide bedingt sein könnten (vgl. Frey-Wyssling 1935, S. 142–). Bei *Beggiatoa* wären also die Plasmahautlipoide möglicherweise hydrophiler als bei *Oscillatoria*. Der Einfluss dieses Faktors lässt sich jedoch nur schwer von demjenigen der Porendichte auseinanderhalten.

Ein eingehender Vergleich der Permeabilitätsreihen für *Chara* und *Oscillatoria* empfiehlt sich nicht, weil die Permeationskonstanten für letzteres Objekt in mehreren wesentlichen Punkten quantitativ im höchsten Grade ungenau sind. Ich begnüge mich deshalb mit einer allgemeinen Betrachtung der Permeabilitätsreihen und versuche auf dieser Grundlage zu einer Erklärung der zwischen den in Frage stehenden Untersuchungsobjekten sich geltend machenden Permeabilitätsunterschiede zu gelangen.

Ein Blick auf unsere Tabelle 6 genügt zum Nachweis, dass der Lipoidlöslichkeit, der Hydrophobie der untersuchten Verbindungen eine wenn auch unbestreitbare, so doch auf keinen Fall ebenso deutlich ausschlaggebende Bedeutung bei der Permeation dieser Stoffe in die Zellen von *Oscillatoria* zukommt, wie das bei *Chara* der Fall ist. Dies scheint wenigstens zum vorwiegenden Teil auf die grössere Porendichte der Plasmahaut bei *Oscillatoria* zurückzuführen zu sein. Es ist nämlich äusserst schwierig, den hervortretenden Unterschied ausschliesslich durch die Annahme zu erklären, die Plasmahautlipoide wären bei *Oscillatoria* deutlich hydrophiler als bei *Chara*, zumal ja die Zuckerarten auch in die Zellen von *Oscillatoria* ausserordentlich langsam permeieren.

Das grösste Interesse bietet *Oscillatoria* dem Permeabilitätsforscher dadurch, dass diese Alge sich in bezug auf ihre Permeabilitätseigenschaften, den Erwartungen Höflers entsprechend, als vermittelndes Glied zwischen der sonst so extremen *Beggiatoa* einerseits und den gewöhnlichen Pflanzenzellen andererseits herausgestellt hat.

IV. LICMOPHORA ŒDIPUS[1].

Allgemeines. — Da die seinerzeit von MARKLUND (1936, S. 69) an der Kieselalge *Melosira*[2] ausgeführten Versuche gezeigt hatten, dass der Protoplast bei diesem Objekt in ganz überraschendem Masse besonders für Rohrzucker durchlässig ist, war es von besonderem Interesse, die Permeabilitätsverhältnisse auch bei einer anderen Kieselalge zu studieren, um zu erfahren, ob diese Eigenschaft für die Diatomeen im allgemeinen oder etwa nur für *Melosira* charakteristisch sei. Zum Versuchsobjekt wählte ich als Gegensatz zu *Melosira*, die zur Ordnung *Centrales* zählt, *Licmophora*, einen Vertreter der Ordnung *Pennales*. Diese Alge findet man zur Herbstzeit in den Küstengewässern des Finnischen Meerbusens reichlich als Epiphyt besonders an *Ectocarpus* und *Pylaiella*, an deren Oberfläche ihre fächerförmigen Kolonien auf kurzen Gallertstielen sitzen. Die einzelnen Zellen haben die Form eines Kreissektors. Ihre radiale Länge beträgt $0.^{0046}$ cm, ihre Breite längs der dem äusseren Kreisbogen entsprechenden Sehne gemessen $0.^{0032}$ cm und die Höhe im peripheren Teil $0.^{00065}$ cm.

Jeden zweiten Tag holte ich aus dem Meere frisches *Ectocarpus*- und *Pylaiella*-Material nebst anhaftenden *Licmophora*-Kolonien, denn im Laboratorium wollten sich letztere nicht recht lange über diese Zeit hinaus in normalem Zustand erhalten. Das Versuchsmaterial hielt ich in Glasgefässen mit ursprünglichem Standortswasser auf dem Tisch meines Arbeitszimmers.

Versuchsmethodik. — Die Permeabilität der *Licmophora*-Zellen habe ich mit Hilfe des allgemein bekannten Grenzplasmolyseverfahrens untersucht. Doch auch hier wurde es nötig, vom üblichen Gebrauch abzuweichen, weil die plasmolysierende Wirkung der meisten untersuchten Verbindungen bei den *Licmophora*-Zellen nur sehr kurze Zeit anhielt und die Zellen sich äusserst leicht von den Algenfäden ablösten, so dass man sie nicht wiederholt in neue Lösungen überführen konnte.

[1] Die Art ist freundlichst von Mag. bot. KARL MÖLDER bestimmt worden.

[2] Höchstwahrscheinlich die in den Küstengewässern des Finnischen Meerbusens häufig auftretende *M. moniliformis*.

Als Lösungsmittel kam wie bei den *Chara*-Untersuchungen Collander & Bärlunds (1933, S. 6) künstliches Brackwasser zur Verwendung. Die benutzten Konzentrationsdifferenzen variierten bei 0.1–0.005 GM. Bei den Parallelversuchen bediente ich mich soweit möglich stets der gleichen Konzentrationsdifferenzen.

Für die Versuche entnahm ich dem Standortswasser mit der Pinzette kleine Büschel der zu untersuchenden Alge und brachte sie nach vorsichtigem Abtrocknen auf Filtrierpapier für eine bestimmte Zeit in die betreffende Versuchslösung. Von hier hob ich das Algenbüschel in eine auf dem Objektträger angebrachte und kurz vorher mit derselben Versuchslösung gefüllte runde Flüssigkeitskammer und verschloss diese mit Hilfe von Vaselin luftdicht mit dem Deckgläschen. Hiernach erfolgten die Beobachtungen, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12 und 16 Minuten nach Versuchsbeginn und wurden in jeder Lösung so lange fortgesetzt, bis der Plasmolysegrad nur noch 50 % oder weniger betrug. Die Anzahl der Zellen in jedem Präparat variierte bei 20–30.

Fand die erste Beobachtung schon nach 30 Sekunden statt, so musste das Verfahren etwas geändert werden. Hierbei passierten die Algenfäden die zu untersuchende Lösung nur ganz flüchtig, ehe sie in einen Tropfen derselben Lösung auf den Objektträger gebracht wurden. Danach wurde an bestimmten Zellen, 10–15 an der Zahl, während 30 Sekunden bis zu 2 Minuten der Verlauf der Plasmolyse verfolgt.

Da es sich während der Versuche herausstellte, dass die *Licmophora*-Zellen eine anhaltende und zugleich kräftigere Plasmolyse nicht vertrugen, mussten solche Versuche, die sich über eine Zeit von 12 Minuten erstreckten, desgleichen auch ein Teil der mit sehr rasch permeierenden Verbindungen ausgeführten Versuche in etwas abweichender Weise ausgeführt werden. In diesen Versuchen wurden die Zellen in Zeitabständen von 2 Minuten — diese Zeit gebrauchte ich später zu den Beobachtungen — in 0.1-mol., seltener in 0.2-mol., von Anfang an hypotonische oder während des Versuches infolge der Permeation des betr. Stoffes hypotonisch werdende Lösungen des zu untersuchenden Plasmolytikums gebracht. Aus diesen wurde dann jedesmal nach einer bestimmten Zeit ein Teil der Zellen für die Beobachtungen — in den Propionamidversuchen für die erste Beobachtung direkt — in die kombinierte Lösungsreihe übergeführt. Die einzelnen Lösungen dieser Reihe enthielten als eine Komponente die zu untersuchende Verbindung in der oben angegebenen Konzentration und als zweite Komponente Rohrzucker in um 0.005 GM abgestuften Konzentrationen. Ehe die erste Beobachtung stattfand, mussten die Zellen zwecks Erreichung des osmotischen Gleichgewichtszustandes zwischen der Rohrzuckerlösung und dem Zellsaft 2 Minuten in der kombinierten Lösung liegen. Danach bestimmte ich ausschliesslich mit Hilfe der kombinierten Lösungsreihe die plasmolysierende Grenzkonzentration. Für jede Beobachtung entnahm ich den ersten Lösungen neue *Licmophora*-Zellen. — In den Trimethylzitrat- und Antipyrinversuchen lagen die Zellen dagegen zunächst mindestens 2 Minuten in den Lösungen der Saccharosereihe, bevor sie in die entsprechenden Lösungen der kombinierten Lösungsreihe übergeführt wurden. Diese Massnahme wurde nötig wegen der

äusserst raschen Permeation dieser Verbindungen in die *Licmophora*-Zellen. Die erste Beobachtung über die plasmolysierende Wirkung der kombinierten Lösung erfolgte nach 30 Sekunden. In den kombinierten Lösungen war die Konzentration des Trimethylzitrats stets 0.2 GM, diejenige des Antipyrins schwankte zwischen 0.2 und 0.5 GM.

In sämtlichen Versuchen ist der Plasmolysegrad durch Abzählen der plasmolysierten Zellen des Gesichtsfeldes bestimmt worden. Alsdann erfolgte nach Bärlund (1929, S. 24) die Bestimmung der temporären plasmolysierenden Grenzkonzentration der zu untersuchenden Verbindungen.

Vor den Versuchen bestimmte ich den Rohrzuckerwert des Zellsaftes in einer Saccharosereihe, in welcher die Konzentrationsdifferenz der Glieder 0.005 GM betrug. Er hat bei den untersuchten *Licmophora*-Zellen bei 0.044-0.065 GM variiert. Da diese Bestimmung nicht an den Versuchszellen selbst, sondern an anderen ähnlichen, allerdings ganz aufs Geratewohl aus der Menge gewählten Zellen vorgenommen wurde, ist mit ihr eine gewisse Fehlermöglichkeit verknüpft. Dieser kommt jedoch in erster Linie nur theoretische Bedeutung zu, da sich beim eingesammelten Versuchsmaterial die grösste festgestellte Schwankung des Rohrzuckerwertes auf nur 0.003 GM belaufen hat.

Die eigentliche Ausführung der Versuche fand in der gleichen Weise statt wie in den *Oscillatoria*-Versuchen, indem gleichzeitig stets mindestens zwei Verbindungen auf ihre plasmolysierende Wirkung hin untersucht wurden. — Die Temperatur hat während der Versuche bei 17.5°–19.0° C variiert.

13. XI. 34. Temp. 18.0° C. C = 0.065 GM.

Zeit	1′	2′	4′	6′	8′	10′	12′	16′	24′	32′	48′	
C_1	0.065	0.066	0.068		0.072		0.079	0.085				GM Saccharose
»	0.073	0.074	0.076		0.080		0.093	0.113				» Glyzerin

14. XI. 34. Temp. 19.0° C. C = 0.064 GM.

C_1	0.064	0.064	0.065		0.068		0.081	0.090	0.105			» Saccharose
»	0.074	0.075	0.077		0.080		0.094	0.116				» Glyzerin
»	0.118	0.133	0.177									» Äthylenglyk.

18. XII. 34. Temp. 18.0° C. C = 0.060 GM.

C_1	0.060	0.061	0.064		0.075		0.086	0.100	0.112			» Saccharose
»										0.015	0.032	» S[1] + 0.1 GM Saccharose
»	0.065	0.066	0.068	0.070	0.077	0.087	0.094	0.107				» Erythrit
»									0.021	0.034	0.045	» S + 0.1 GM Erythrit
»	0.068	0.069	0.071	0.078	0.083	0.090	0.097	0.114				» Malonamid
»									0.025	0.039	0.048	» S + 0.1 GM Malonamid

[1] S bedeutet hier und im folgenden: »GM Saccharose».

19. XII. 34. Temp. 18.5° C. $C = 0{,}063$ GM.

Zeit	1′	2′	4′	6′	8′	10′	12′	16′	24′	32′	48′		
C_1	0,067	0,067	0,069	0,073	0,080	0,090	0,096	0,110				GM	Erythrit
»									0,023	0,035	0,045	»	S + 0,1 GM Erythrit
»	0,068	0,069	0,072	0,076	0,082	0,091	0,100					»	Glyzerin
»								0,010	0,033	0,047	0,054	»	S + 0,1 GM Glyzerin
»	0,070	0,072	0,080	0,090	0,100							»	Harnstoff
							0,008	0,018	0,037	0,051	0,058	»	S + 0,1 GM Harnstoff

23. XI. 34 Temp. 17.5° C. $C = 0{,}047$ GM.

C_1	0,053	0,053	0,055	0,059	0,067	0,078	0,089		»	Erythrit
»	0,055	0,056	0,057	0,061	0,069	0,084	0,094		»	Malonamid
»	0,055	0,056	0,057	0,061	0,069	0,083	0,094		»	Glyzerin

17. XII. 34. Temp. 18.0 C. $C = 0{,}065$ GM.

C_1	0,077	0,078	0,082	0,088	0,097	0,100					»	Malonamid
»							0,014	0,030	0,050		»	S + 0,1 GM Malonamid
»	0,078	0,080	0,086	0,094	0,100	0,120					»	Urotropin
»							0,031	0,056			»	S + 0,1 GM Urotropin

22. XI. 34. Temp. 18.0 C. $C = 0{,}045$ GM.

C_1	0,052	0,053	0,055	0,060	0,068	0,080	0,092		»	Glyzerin
»	0,053	0,055	0,058	0,063	0,070	0,092	0,101		»	Harnstoff
»	0,063	0,065	0,070	0,090	0,120				»	Methylharnst.

14. XII. 34. Temp. 18.5° C. $C = 0{,}065$ GM.

C_1	0,071	0,071	0,075	0,080	0,090	0,098					»	Glyzerin
»							0,014	0,030	0,047	0,055	»	S + 0,1 GM Glyzerin
»	0,078	0,080	0,088	0,095	0,100	0,120					»	Urotropin
»							0,034	0,055			»	S + 0,1 GM Urotropin

20. XII. 34. Temp. 18.5° C. $C = 0{,}065$ GM.

C_1	0,072	0,073	0,076	0,082	0,090	0,100					»	Harnstoff
»							0,018	0,035	0,046	0,058	»	S + 0,1 GM Harnstoff
»	0,071	0,073	0,078	0,089	0,100						»	Urotropin
»							0,033	Zellen geschädigt.			»	S + 0,1 GM Urotropin
»	0,080	0,088	0,109	0,132	0,162	0,200					»	Methylharnst.
»							0,040	0,050	0,060	0,063	»	S + 0,1 GM Methylharnst.

	20. XI. 34.			Temp. 19.0° C.		$C = 0.044$ GM.						
Zeit 30″	1′	2′	3′	4′	6′	8′	10′	12′	16′			
C_1	0.050	0.051		0.054	0.060	0.067		0.080	0.095	GM	Harnstoff	
»	0.102	0.118	0.142	0.190	0.239					»	Äthylenglyk.	
	6. XII. 34.			Temp. 17.5° C.		$C = 0.065$ GM.						
C_1	0.070	0.072	0.076	0.081	0.089	0.096	0.102			»	Harnstoff	
»	0.080	0.084		0.105	0.129	0.155	0.190			»	Methylharnst.	
» 0.102	0.140	0.179	0.266	0.324	0.500					»	Äthylenglyk.	
»						0.048	0.053	0.059	0.064	»	S + 0.1 GM Äthylenglyk.	
	24. XII. 34.			Temp. 17.5° C.		$C = 0.051$ GM.						
C_1	0.066	0.070		0.081	0.097	0.120	0.148	0.200		»	Methylharnst.	
» 0.100	0.108	0.150	0.200	0.246	0.310	0.450				»	Äthylenglyk.	
» 0.150	0.165	0.289	0.353	0.465	1.0					»	Azetamid	
	28. XI. 34.			Temp. 18.0° C.		$C = 0.052$ GM.						
C_1 0.145	0.157	0.250	0.414	0.500	1.0					»	Azetamid	
»					0.042	0.051				»	S + 0.2 GM Azetamid	
» 0.500	1.0									»	Propionamid	
»		0.050	0.052							»	S + 0.2 GM Propionamid	

Die Versuchsergebnisse. — An Hand der experimentell ermittelten temporären plasmolysierenden Grenzkonzentrationen habe ich die temporären plasmolytischen Koeffizienten der untersuchten Verbindungen berechnet. Ihre arithmetischen Mittelwerte gründen sich auf die Resultate von je 4–5 Versuchen.

Die in Abb. 2 dargelegten Plasmolysekurven für *Licmophora* basieren sich auf die in obiger Weise festgestellten Mittelwerte. Die Mittelwertkurven zeigen zwar eine regelmässigere Form als die ursprünglichen Kurven, ihr allgemeiner Verlauf hat sich aber unverändert erhalten. Da die Versuchsreihen, wie eingangs erörtert, untereinander zu einer fortlaufenden Kette zusammentreten, lassen sich die Mittelwertkurven direkt miteinander vergleichen.

Bei der Betrachtung der Kurven fällt auf, dass in sämtlichen Kurven der aufsteigende Teil völlig fehlt, während man bei Plasmolyseversuchen sonst im allgemeinen sowohl die Phase der zunehmenden wie die der abnehmenden Plasmolyse unterscheiden kann. Die Ursache hierzu ist offenbar die, dass die erste Phase infolge der grossen Durchlässigkeit des Plasmas und der Zellwand sowie auch infolge

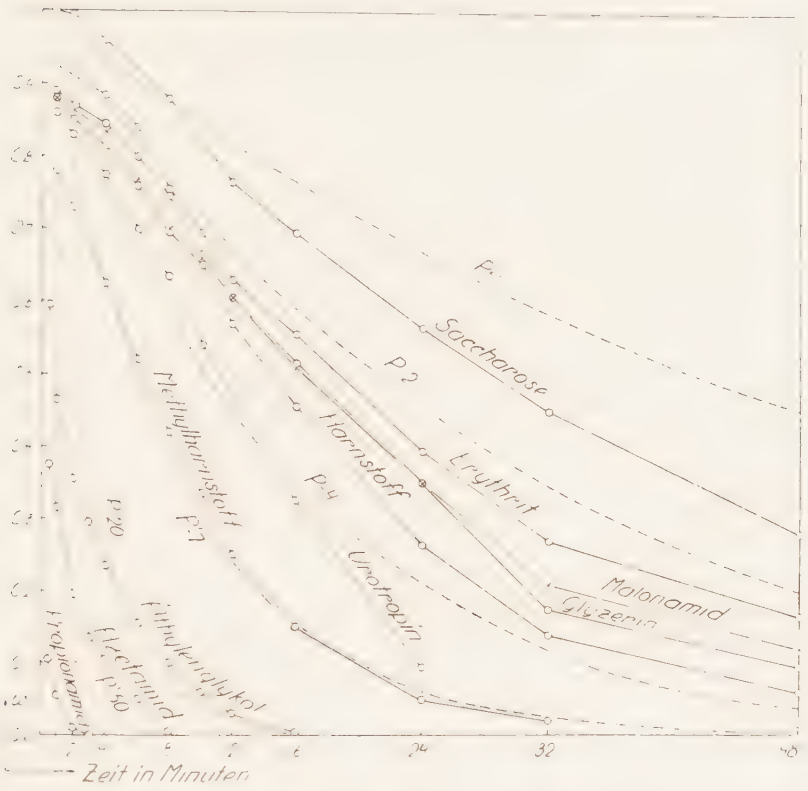


Abb. 2. Plasmolysekurven für *Licmophora*.

der grossen spezifischen Oberfläche der *Licmophora*-Zellen ungewöhnlich schnell vorübergeht.

Fehlerquellen. — Im folgenden seien nur diejenigen Fehlerquellen berührt, die speziell für *Licmophora* von Bedeutung sein können.

Gleich bei den ersten Plasmolyseversuchen stellte ich ganz wie v. Cholnoky (1928, S. 458, und 1935, S. 163–), der die Plasmolyse bei zahlreichen Kieselalgen studiert hat, fest, dass die *Licmophora*-Zellen eine anhaltende und zugleich also kräftige Plasmolyse nicht vertragen (vgl. Marklund 1936, S. 68). Nach einer schwächeren Plasmolyse trat dagegen in sämtlichen geprüften Lösungen in der Regel eine normale Ausdehnung der Protoplasten ein, und nach vollzogener Deplasmolyse plasmolysierten sich die Zellen in den kombinierten Lösungen von neuem in schöner Weise. Auch folgender

Spezialversuch veranschaulicht an seinem Teil den Verlauf der Plasmolyse in den Zellen von *Licmophora*. Die Zellen, deren ursprünglicher Rohrzuckerwert 0.065 GM betrug, lagen in diesem Versuch zuerst in einer 0.1-mol. Glyzerinlösung, in welcher binnen 10 Minuten der Plasmolysegrad 50 % erreicht wurde. Hiernach wurden sie in eine 0.13-mol. Glyzerinlösung übergeführt, und hier war der Plasmolysegrad nach 9 $^1/_2$ Minuten 50 %. Schliesslich folgte noch eine 0.17-mol. Glyzerinlösung. In dieser erforderte die Erreichung des Plasmolysegrades 50 % eine Zeit von 10 $^1/_2$–11 Minuten. Die Versuchsreihe gibt also zu erkennen, dass eine schwache Plasmolyse, auch wiederholt herbeigeführt, in allen drei Glyzerinlösungen mit der gleichen Schnelligkeit rückgängig wird, m. a. W. dass die Permeabilität der *Licmophora*-Zellen für Glyzerin während der ganzen Versuchszeit unverändert bleibt (vgl. Iljin 1935, S. 306–). Ihrerseits liefern wiederum längere Versuche den Nachweis, dass die Permeabilitätsverhältnisse bei den Zellen dieses Objekts sowohl im plasmolysierten als im unplasmolysierten Zustand nicht voneinander abweichen; am deutlichsten wird indes dieser Umstand durch den allgemeinen Verlauf der Plasmolysekurven zum Ausdruck gebracht.

Die in plasmolysierten Zellen auftretende Systropheerscheinung hat insbesondere Germ (1933) studiert und er ist hierbei zu der Auffassung gelangt, dass sie eine durch die Ablösung des Protoplasten von der Zellwand verursachte Reizreaktion darstelle und mithin als ein echter Lebensvorgang zu gelten habe. v. Cholnoky (1935, S. 163) hat indessen konstatiert, dass bei *Melosira* die Systrophe überhaupt nicht rückgängig wird, sondern die Zellen sterben schliesslich in der Regel ab. Auch bei *Licmophora* konnte ich namentlich bei kräftigerer und länger andauernder Plasmolyse deutliche Systrophe konstatieren. Sie war jedoch stets nur vorübergehend, stellte sich aber wieder ein, wenn eine kräftigere Plasmolyse der Zellen eintrat. Unter diesen Umständen ist die Systrophe im vorliegenden Falle lediglich als eine Reizerscheinung und zugleich als ein Zeichen völliger Lebensfähigkeit der *Licmophora*-Zellen zu betrachten.

Über die Plasmolyseform sei erwähnt, dass sich in schwächeren Lösungen die Protoplasten schön regelmässig von der Zellwand ablösten (Abb. 3 *a*). Setzte die Plasmolyse aber plötzlich und kräftig ein, so nahm der Protoplast eine unregelmässigere Form an (*b*). Ersteres würde auf eine geringe Viskosität des Plasmas ebenso wie

auf eine geringe Adhäsion zwischen Plasma und Zellwand deuten, da ich nie vom Protoplasten gegen die Zellwand ausgehende Plasmafäden wie auch nie an der Zellwand anhaftende Reste des zusammengezogenen Protoplasten beobachtet habe (vgl. v. CHOLNOKY l. c., S. 161– und Fig. 1).

In meinen Versuchen mit *Licmophora* habe ich bei der mikroskopischen Prüfung der Zellen nie beobachtet, dass auch nur einer

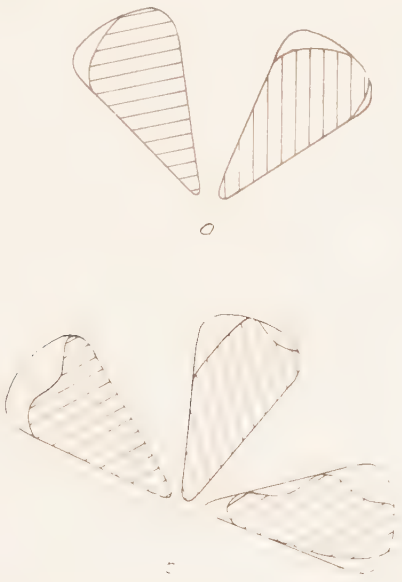


Abb. 3. Plasmolysierte *Licmophora*-Zellen. Nähere Erklärung im Text.

der als Plasmolytikum benutzten Stoffe im Zellinhalt eine Fällung hervorgerufen hätte. Wohl aber hat sich feststellen lassen, dass Urotropin, Propionamid und Antipyrin besonders in stärkeren Lösungen (Propionamid, Antipyrin 1.0 GM) mit der Zeit schädigend auf die Zellen einwirken. Doch nur in den Versuchen mit Urotropin machten sich die nachteiligen Einwirkungen dieses Stoffes schon während des Versuches selbst in der Form einer plötzlich und rascher als normal einsetzenden Deplasmolyse (Abb. 2) sowie eines abweichenden Plasmolysebildes in der nachfolgenden Saccharoselösung bemerkbar. In sämtlichen übrigen Versuchen verblieben die Zellen normal, was durch die in kombinierten Lösungen gemachten Beobachtungen

sowie den gleichmässigen Verlauf der mitgeteilten Plasmolysekurven bezeugt wird.

Beim Partialdruckverfahren habe ich mich auf eine Versuchsdauer von nur 2 Minuten beschränkt, um eine grössere Beeinflussung der Versuchsresultate durch die während des Versuches stattfindende Rohrzuckerpermeation zu verhindern.

Wie aus Obigem hervorgehen dürfte, hat sich die Permeationsgeschwindigkeit der meisten untersuchten Verbindungen in die Zellen von *Licmophora* mit einer recht grossen Genauigkeit bestimmen lassen. Eine Ausnahme bilden hierin nur die am raschesten permeierenden Stoffe (Propionamid, Antipyrin, Trimethylzitrat), von denen nur das Propionamid eine annähernde zahlenmässige Angabe seiner Permeationsgeschwindigkeit gestattet hat, sowie das Urotropin, für das die Resultate der längeren Versuche entschieden mit Vorbehalt zu nehmen sind.

Allgemeiner Verlauf der Permeation. — Da ich bei den Versuchen festgestellt habe, dass die Konzentration einiger der benutzten Verbindungen (Trimethylzitrat, Antipyrin, Propionamid, Azetamid, Äthylenglykol, Methylharnstoff) nach einer bestimmten Zeit sowohl in- als ausserhalb der Zelle praktisch dieselbe ist und die Plasmolysekurven der übrigen unschädlichen Plasmolytika sich der x-Achse asymptotisch nähern, dürfte man den zwischen der Aussenlösung und dem Zellsaft herrschenden Konzentrationsunterschied als ein direktes Mass des Aktivitätsgefälles betrachten können (vgl. Bärlund 1929, S. 58).

Um zu erfahren, in welchem Masse die Stoffaufnahme der *Licmophora*-Zellen den einfachen Diffusionsgesetzen folgt, habe ich in der Abbildung 2 sechs theoretische Kurven, berechnet an Hand des Fickschen Diffusionsgesetzes nach Bärlund (1929, S. 65), hinzugefügt. Ein Vergleich der experimentell ermittelten Plasmolysekurven mit diesen theoretischen Kurven gibt eine überraschende Übereinstimmung ihres Verlaufes zu erkennen. Eine eingehendere Betrachtung legt jedoch an den Tag, dass der grösste Unterschied in den ersten Minuten des Versuches zu finden ist, indem die experimentell ermittelten ω-Werte stets niedriger liegen als die theoretischen. Dies hat bekanntlich seine Ursache zum Teil in der beschränkten Wasserpermeabilität des Protoplasmas, ferner in der diffusionshemmenden Einwirkung der Zellwand und zum Teil auch in der Differenz zwischen

dem nach dem VAN'T HOFFschen Gesetz berechneten und dem tatsächlichen osmotischen Effekt, so dass in den ersten Augenblicken des Versuches sich so lange allzu niedrige ω-Werte ergeben, wie diese Umstände ein zu schnelles Eindringen der permeierenden Verbindungen vortäuschen.

Aus dem Verlauf der Kurven dürfte indes herauszulesen sein, dass, auch wenn ich keine vollständigen Plasmolysekurven für sämtliche untersuchten Verbindungen vorgelegt habe, ihre Permeation auch die des Rohrzuckers, in die Zellen von *Licmophora* mit sehr grosser Wahrscheinlichkeit dem FICKschen Diffusionsgesetz gemäss stattfindet. Ebenso wird durch den über das Ein- und Ausdringen des Glyzerins ausgeführten Versuch, in welchem in 10 Minuten aus einer 0.1-mol. Glyzerinlösung 30 relat. Proz. (0.03 GM) Glyzerin in die *Licmophora*-Zellen hinein, im Laufe der folgenden 10 Minuten (8 Minuten in künstlichem Brackwasser und 2 Minuten in einer Rohrzuckerreihe) 33 relat. Proz. (0.01 GM) herauspermeierten, die Permeationsgeschwindigkeit also in beiden Richtungen praktisch die gleiche war, die Auffassung von der Permeation der untersuchten Verbindungen durch einfache Diffusion noch weiter bestätigt.

Die Permeabilitätseigenschaften. — Die P-Werte der Tabelle 8 für *Licmophora* haben sich durch Division der P'-Werte mit 4,600 (der in diesem Falle für 1 cm³ des Zellinhalts berechneten Diffusionsfläche in cm²) ergeben.

Tabelle 8. Permeabilitätsreihe für *Licmophora* mit denjenigen für *Melosira* (nach MARKLUND) und für *Chara* (nach COLLANDER & BÄRLUND) verglichen.

Licmophora				*Melosira*	*Chara*	Substanz	Für Glyzerin = 1		
ω	t (Min.)	P'	$P \cdot 10^4$	$P \cdot 10^4$	$P \cdot 10^4$		*Licmophora*	*Melosira*	*Chara*
0.1	0.5	280	600	1040	1300	Propionamid	110	84	180
0.2	2	48	100	170	530	Azetamid . . .	18	14	72
0.2	5	19	41	135	430	Äthylenglykol	7.2	11	58
0.2	14	6.9	15	42	68	Methylharnst.	2.6	3.4	9.2
0.5	11	3.8	8.2	11	26	Urotropin . .	1.4	0.88	3.5
0.5	14	2.9	6.3	15	40	Harnstoff . .	1.1	1.2	5.4
0.5	16	2.6	5.7	12	7.4	Glyzerin	1	1	1
0.5	16	2.6	5.7	6.5	1.4	Malonamid . .	1	0.53	0.19
0.5	19	2.2	4.8	4.6	0.46	Erythrit	0.84	0.38	0.062
0.5	29	1.4	3.0	2.1	<0.3	Saccharose . .	0.53	0.17	<0.04

Ein Blick auf die Tabelle gibt zu erkennen, dass die Permeabilitätseigenschaften von *Licmophora* und *Melosira* einander im grossen und ganzen überaus ähnlich sind, und zwar vor allem darin, dass Saccharose und, allerdings in geringerem Masse, auch das Erythrit mit einer für diese Substanzen ganz aussergewöhnlich grossen Geschwindigkeit permeieren, weshalb die Differenz zwischen den Permeationsgeschwindigkeiten der am langsamsten und der am raschesten permeierenden Stoffe im Falle der beiden Diatomeen ungewöhnlich klein ist. In dieser Hinsicht scheint *Licmophora* ihrem Vergleichspart sogar in gewissem Masse überlegen zu sein (vgl. MARKLUND 1936, S. 71). Erythrit, Malonamid, Glyzerin und Harnstoff weisen in bezug auf ihre Permeationsgeschwindigkeit eine noch grössere Übereinstimmung auf.

Das ausnahmsweise rasche Eindringen des Rohrzuckers, Erythrits, Malonamids sowie des Urotropins in die Zellen von *Licmophora* und *Melosira* dürfte am natürlichsten durch die Annahme einer aussergewöhnlichen Porengrösse der Plasmahaut bei den Kieselalgen zu erklären sein. Zwar besteht auch die Möglichkeit, dass die Unterschiede zum Teil von einer grösseren Hydrophilie der Plasmahautlipoide herrühren.

Es ist nun jedenfalls vom Standpunkt der vergleichenden Protoplasmatik interessant festzustellen, dass die beiden Kieselalgen, die bisher auf ihre Permeabilität hin studiert worden sind, trotz ihrer Zugehörigkeit zu verschiedenen Ordnungen eine derart grosse Ähnlichkeit miteinander aufweisen und in dieser Hinsicht von allen anderen bisher untersuchten pflanzlichen Zellen abweichen (s. MARKLUND 1936, S. 91). Um zu sehen, ob auch die Zuckerpermeabilität anderer Diatomeen ebenso auffallend gross wie diejenige von *Licmophora* und *Melosira* ist, versuchte ich auch einige *Navicula*- und *Pinnularia*-Arten mit Saccharose zu plasmolysieren. Leider war jedoch die Plasmolyse bei diesen Objekten so schwer zu beobachten, dass sich keine eindeutigen Ergebnisse erzielen liessen. Wenn man jedoch berechtigt ist anzunehmen, dass die Wiederaufnahme der Bewegungen nach einem vom Zuckerzusatz bewirkten Stillstand die stattgefundene Deplasmolyse anzeigt, dann würden sich auch diese Diatomeen als hochgradig permeabel für Saccharose erweisen.

V. SPIROGYRA SP.

Allgemeines. — Ausführlicher ist die Permeation der Anelektrolyte in die Zellen von *Spirogyra* bisher nur von Overton (1895) studiert worden. Er bediente sich bei seinen Untersuchungen des Plasmolyseverfahrens, hat aber seine Resultate leider in äusserst unvollständiger Form veröffentlicht. So wissen wir nur, dass z. B. das Antipyrin die lebenden Protoplasten sofort durchdringt, dass Glykol recht schnell, Glyzerin mässig, doch erheblich schneller als Harnstoff, Erythrit langsam und die Hexosen nicht merklich, Azetamid und Propionamid schnell, Ester, soweit in Wasser löslich, sehr schnell in die Zellen eindringen (l. c., S. 179–). — Marklund (1936, S. 73) dagegen hat festgestellt, dass der Harnstoff in die Zellen der von ihm untersuchten *Spirogyra*-Art rascher und zwar annähernd 5mal rascher als das Glyzerin eindringt.

An sich wirkte der Umstand, dass die Permeabilitätsverhältnisse von *Spirogyra* in bezug auf die Anelektrolyte quantitativ unbefriedigend untersucht waren, nicht in grösserem Masse auf die Einbeziehung dieses Objektes in die vorliegende Untersuchung ein. Den hauptsächlichsten Grund für diese Wahl bildete die leichte Beschaffung des erforderlichen Versuchsmaterials und ferner einfach der Umstand, dass sich *Spirogyra* als ein recht sympathisches Versuchsobjekt erwies.

Die von mir hier untersuchte *Spirogyra*-Art fand sich reichlich in einer wassergefüllten Sandgrube im nächsten Bereich der Stadt Helsinki. Die Länge der Zellen betrug durchschnittlich 0.0285 cm und ihre Breite 0.0023 cm. Jede Zelle hatte 2–3 zwei- bis viermal gewundene Chromatophoren. Jeden zweiten Tag holte ich aus dem Wassertümpel neues Material, da die Erfahrung in Gemässheit mit den Befunden Derrys (1930, S. 5) zeigte, dass sich die *Spirogyra*-Zellen im Laboratorium nicht mehrere Tage hindurch in normalem Zustand zu erhalten vermochten (vgl. Weber 1932, S. 179). Das Material bewahrte ich am Fenster meines Arbeitszimmers in grossen Glasgefässen mit originalem Standortswasser auf.

Versuchsmethodik. — Da die *Spirogyra*-Fäden länger anhaltende kräftige Plasmolyse nur schlecht vertrugen (vgl. LEPESCHKIN 1909, S. 132 und 138), hielt ich es fürs beste, die Permeation der Verbindungen an unplasmolysierten Zellen zu studieren. Nur zu bestimmten Zeitpunkten bestimmte ich plasmolytisch und nach dem Partialdruckverfahren den osmotischen Wert des Zellsaftes. Zu diesem Zweck mussten 3 Lösungsreihen hergestellt werden, in welchen frisch abfiltriertes Standortswasser als Lösungsmittel diente. Zuerst stellte ich durch Verdünnung aus der volumnormalen Stammlösung solche hypotonische Lösungen her (Lösungsreihe I), für welche durch spezielle Vorversuche die für die eigentlichen Versuche am besten geeignete Konzentration zuvor ermittelt worden war: Saccharose, Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Urotropin, Harnstoff und Trimethylzitrat 0.2 GM, Methylharnstoff 0.3 GM, Äthylenglykol 0.4 GM, Azetamid und Propionamid 0.5 GM, Antipyrin 0.2–1.0 GM. Die zweite Lösungsreihe (Reihe II) enthielt den zu untersuchenden Stoff in den oben angegebenen Mengen und ausserdem Saccharose in um 0.02 GM abgestuften Konzentrationen. In dieser Reihe waren das erste oder die zwei ersten Glieder stets von Anfang an hypotonisch, die 3–4 letzten Glieder enthielten wiederum mehr Saccharose, als dem ursprünglichen Rohrzuckerwert des Zellsaftes entspricht, dies um möglichst vollständige Versuchsreihen zu erzielen. Als Lösungsreihe III stellte ich schliesslich eine reine Saccharosereihe in Konzentrationsstufen von 0.02 GM her. Mit ihrer Hilfe erfolgte die plasmolytische Bestimmung des ursprünglichen Rohrzuckerwertes des Zellsaftes, ausserdem bediente ich mich aber ihrer auch zu den weiter unten zu erörternden Zwecken. Im übrigen verfuhr ich bei der Herstellung der Lösungen sowie bei ihrem Gebrauch wie vorher.

Im Detail verfuhr ich bei den Versuchen folgendermasse: Mit äusserster Vorsicht trug ich mit der Pinzette *Spirogyra*-Fäden über Filtrierpapier, wo sie rasch abfliessen durften, in Zeitabständen von 5 Minuten in die hypotonischen Lösungen des zu untersuchenden Stoffes, also in die Lösungsreihe I ein, bis sich Versuchsmaterial in genügend vielen Lösungen vorfand. Den genannten Zeitabstand wählte ich, um während der Versuche die Beobachtungen (3–4 Minuten) in aller Ruhe machen zu können. Als die Algenbüschel eine bestimmte Zeit in diesen hypotonischen Lösungen gelegen hatten, wurde ein Teil von ihnen in die Lösungsreihe II übergeführt, wo die Fäden zwecks Erreichung des osmotischen Gleichgewichtes zwischen der Rohrzuckerlösung und dem Zellsaft bis 10 Minuten lagen. Nun wurde das Algenbüschel in seiner Gesamtheit in einen Tropfen derselben Lösung unter das Mikroskop gebracht. Um eine Zerdrückung der Zellen zu verhindern, wurde das Deckgläschen

gestützt. Die erste Beobachtung erfolgte nach 15 Minuten, die nächsten nach 30 Minuten, 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden. Hierbei bestimmte ich wie vorher nach dem Augenmass die plasmolysierende Wirkung der Lösungen an den *Spirogyra*-Zellen und berechnete danach die temporäre plasmolysierende Grenzkonzentration der kombinierten Lösung in bezug auf den Rohrzucker. Bei der Abschätzung des Plasmolysegrades wurden stets die drei äussersten Zellen des Fadenendes, desgleichen die beiderseits einer mitten im Faden aus unbekannten Gründen beschädigten Zelle sitzenden Nachbarzellen zur Vermeidung einer eventuellen Einwirkung des Wundreizes auf die Versuchsresultate (vgl. Derry 1930, S. 5) unberücksichtigt gelassen.

Um Beobachtungen auch schon vor Ablauf der ersten 15 Minuten anstellen zu können, musste das obige Verfahren etwas geändert werden. In diesen Versuchen brachte ich die Algenfäden zuerst in hypotonische Rohrzuckerlösungen (Reihe III, erster Abschnitt), wo sie zwecks Erreichung des osmotischen Gleichgewichtes 10 bis 15 Minuten liegen mussten. Hiernach wurden sie in die entsprechenden (also in bezug auf die Rohrzuckerkonzentration gleichwertigen) Lösungen der Reihe II übergeführt. Die Beobachtungen erfolgten nach 2, 4, 8 und 15 Minuten. Diese letzte Beobachtung sowie die erste der vorhin erörterten Versuche bildeten das Verbindungsglied zwischen den beiden Abschnitten der gesamten Versuchsreihe.

Vor den Versuchen und oft auch während derselben bestimmte ich mit Hilfe der Reihe III (reine Saccharoselösung) den ursprünglichen Rohrzuckerwert der *Spirogyra*-Zellen. Dieser variierte während der ganzen Versuchsdauer zwischen 0.346 und 0.374 GM, und der grösste während eines Versuchstages festgestellte Unterschied belief sich auf nur 0.006 GM, welcher Wert zum vorwiegenden Teil schon innerhalb der mit der Bestimmung des Plasmolysegrades selbst verbundenen Fehlergrenze fällt.

Nach den eigentlichen Versuchen fand stets mit Hilfe der Lösungsreihe II der untersuchten Verbindungen (Trimethylzitrat, Antipyrin, Propionamid, Harnstoff, Urotropin) die Bestimmung des osmotischen Wertes der Zellen und zur Kontrollierung ihres Gesundheitszustandes eine Nachprüfung der Plasmolyse statt. Zum gleichen Zweck ermittelte ich ausserdem am folgenden Tage (etwa 24 Stunden nach Versuchsbeginn), ebenfalls mit Hilfe der Lösungsreihe II derjenigen Stoffe (Azetamid, Äthylenglykol, Methylharnstoff, Glyzerin, Malonamid, Erythrit, Saccharose; Ausnahme: Trimethylzitrat), die während der eigentlichen Versuchszeit keine wahrnehmbaren Veränderungen in den *Spirogyra*-Zellen verursacht hatten, den osmotischen Wert des Zellsaftes und die Plasmolysierung der Zellen.

Wie bei den früheren Untersuchungen verfolgte ich stets die Permeation zweier Verbindungen gleichzeitig in die Zellen von *Spirogyra*. So liessen sich die an den verschiedenen Stoffen erhaltenen Versuchsergebnisse direkt miteinander vergleichen. Die Wahl der Stoffkombinationen fand in der gleichen Weise wie bei *Oscillatoria* statt. — In sämtlichen Versuchen wurde den Zellfäden eine äusserst vorsichtige Behandlung zuteil, weil die *Spirogyra*-Zellen ja wie bekannt besonders empfindlich gegen mechanische Schädigungen sind (vgl. Derry 1930, S. 6; Sakamura 1933, S. 295–). — Während der Versuche schwankte die Temperatur bei 19.0°–22.0° C.

Datum	Temp. C.	C-Wert	Plasmolysierende Grenzkonzentration zu bestimmten Zeitpunkten 2′	4′	8′	15′	15′	30′	60′	120′	240′	480′	24 St.		Substanz
26. VII. 34.	22	0.370 GM	0.125	0.395	0.372	0.370									GM Saccharose
								0.170	0.170	0.170	0.171	0.178	0.193	»	S[1] + 0.2 GM Saccharose
			0.233	0.208	0.189	0.191		0.193	0.197	0.210	0.230	0.260	0.280	»	S + 0.2 GM Malonamid
25. VII. 34.	21.5	0.348 GM	0.211	0.195	0.175	0.176		0.179	0.192	0.208	0.230	0.259	0.297	»	—»—
			0.213	0.189	0.171	0.172		0.174	0.180	0.190	0.209	0.229	0.251	»	S + 0.2 GM Erythrit
24. VII. 34.	21.5	0.357 GM	0.220	0.190	0.172	0.173		0.178	0.181	0.186	0.193	0.217	0.243	»	—»—
			0.223	0.198	0.193	0.200[2]	0.198	0.208	0.216	0.233	0.261	0.298	0.353	»	S + 0.2 GM Glyzerin
9. VII. 34.	21	0.352 GM	0.218	0.202	0.185	0.193	0.195	0.202	0.213	0.230	0.262	0.302	0.352	»	—»—
			0.240	0.197	0.206	0.214								»	S + 0.2 GM Urotropin
21. VII. 34.	19	0.353 GM	0.208	0.186	0.184	0.192	0.190	0.215	0.256[3]					»	—»—
			0.230	0.193	0.206	0.210	0.212	0.237	0.270	0.317	0.358			»	S + 0.2 GM Harnstoff
20. VII. 34.	21	0.360 GM	0.233	0.216	0.209	0.220	0.218	0.243	0.282	0.357				»	—»—
			0.223	0.200	0.198	0.206		0.216	0.229	0.247	0.266		0.348	»	S + 0.2 GM Glyzerin
6. VII. 34.	21.5	0.353 GM	0.188	0.183	0.177	0.183	0.183	0.191	0.208	0.224	0.253	0.297	0.348	»	—»—
			0.215	0.200	0.201	0.213	0.213	0.233	0.257	0.291	0.360	0.370	0.378	»	S + 0.2 GM Harnstoff
8. VII. 34.	20	0.358 GM	0.213	0.205	0.208	0.218		0.258	0.303	0.367				»	—»—
			0.150	0.130	0.142	0.153	0.158	0.229	0.291	0.355	0.365			»	S + 0.3 GM Methylharnst.
19. VII. 34.	21	0.350 GM	0.154	0.146	0.153	0.163	0.165	0.233	0.308	0.350			0.351	»	—»—
			0.163	0.193	0.216	0.277		0.337	0.350		0.352		0.352	»	S + 0.4 GM Äthylenglyk.

11. VII. 34	20.5	0.362 GM	0.157	0.180	0.237	0.250	0.250	0.340	0.367			0.363		GM S + 0.4 GM Äthylenglyk.
			0.207	0.183	0.193	0.203	0.210	0.272	0.340	0.360			0.370	» S + 0.3 GM Methylharnst.
12. VII. 34	21	0.374 GM	0.160	0.183	0.218	0.298		0.362	0.374		0.374		0.376	» S + 0.4 GM Äthylenglyk.
			0.197	0.211	0.311	0.351		0.374	0.376				0.373	» S + 0.5 GM Azetamid
18. VII. 34.	22	0.353 GM	0.220	0.243	0.280	0.298	0.310	0.356					0.368	» —»—
			0.173	0.203	0.253	0.270	0.277	0.343	0.354				0.355	» S + 0.4 GM Äthylenglyk.
17. VII. 34.	22	0.346 GM	0.206	0.244	0.295	0.317		0.349					0.360	» S + 0.5 GM Azetamid
			0.278	0.296		0.346								» S + 0.5 GM Propionamid
			0.273	0.293	0.317	0.342								» —»—
13. VII. 34.	20	0.363 GM	0.268	0.315	0.338	0.363								» —»—
			0.218	0.250	0.297	0.323		0.364						» S + 0.5 GM Azetamid
14. VII. 34.	21.5	0.350 GM	0.268	0.290	0.330	0.348		0.352						» S + 0.5 GM Propionamid
			0.250	0.340	0.340			0.350[4]						» S + 0.2 GM Trimethylzitr.
16. VII. 34.	22	0.358 GM	0.358	0.358		0.358								» —»—
			0.273	0.298	0.323	0.356		0.359						» S + 0.5 GM Propionamid

[1] S bedeutet hier und im folgenden: »GM Saccharose».

[2] Der erstere Wert fällt in die erste, der zweite in die zweite Hälfte der Versuchsreihe.

[3] Beobachtung 80 Minuten nach Versuchsbeginn.

[4] Die temporäre plasmolysierende Grenzkonzentration ist die gleiche 30 Sekunden und 1 Minute nach Versuchsbeginn.

Die Versuchsergebnisse. — Umstehend sind die bei den obigen Permeationsversuchen erhaltenen Versuchsresultate verkürzt wiedergegeben. In den Protokollauszügen sind nur die an Hand der auf alle vollständig durchgeführten Versuchsreihen bezüglichen

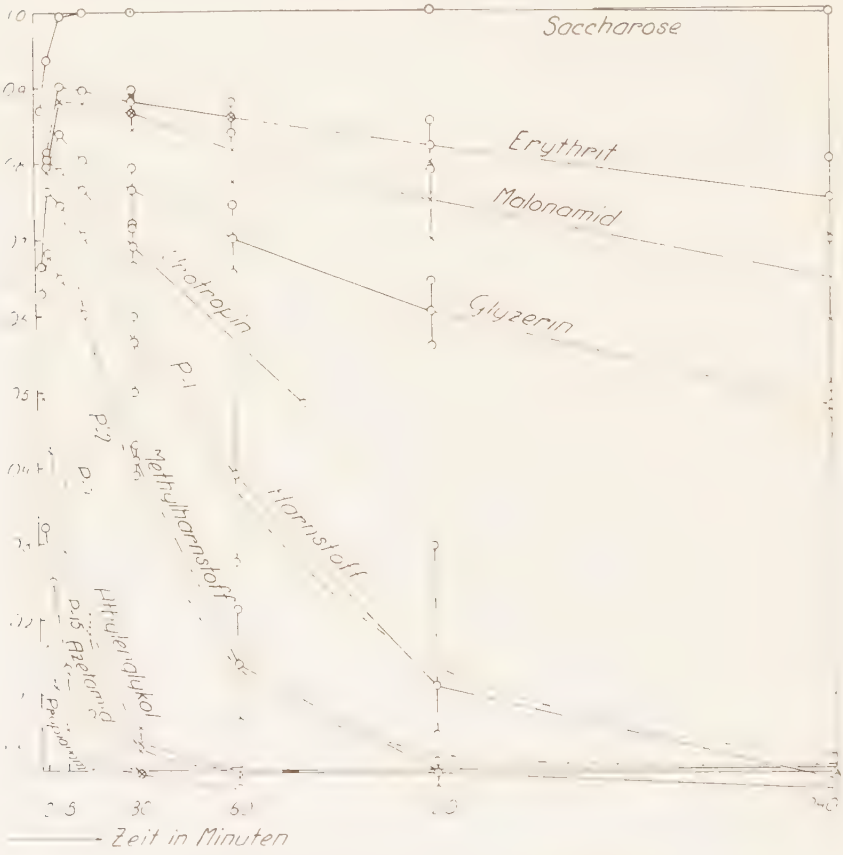


Abb. 4. Plasmolysekurven für *Spirogyra*, I.

Plasmolysebeobachtungen berechneten temporären plasmolytischen Grenzkonzentrationen angegeben.

Auf Grund der ermittelten temporären plasmolytischen Grenzkonzentrationen habe ich die temporären plasmolytischen Koeffizienten (ω) der untersuchten Verbindungen berechnet. Auf der Basis der in den meisten Fällen als arithmetischer Mittelwert von min-

destens 3–4 Versuchsresultaten erzielten ω-Werte haben sich dann die in Abb. 4 mitgeteilten Plasmolysekurven für *Spirogyra* ergeben. Daselbst sind auch einige Höchst- und Mindestwerte für ω angeführt, deren entsprechende Punkte durch Senkrechte verbunden sind.

Fehlerquellen. — Wie man aus dem Verlauf der Saccharosekurve schliessen kann, treten die beschränkte Wasserpermeabilität des Protoplasmas sowie die diffusionshemmende Einwirkung der Zellwand am stärksten in den ersten 10–15 Minuten des Versuches hervor. Nach dieser Zeit kann höchstens noch der letztgenannte Faktor auf die Versuchsergebnisse einwirken, doch auch das ist recht wenig wahrscheinlich, da von den benutzten Stoffen kein einziger sehr langsam durch die Zellwand und zugleich sehr rasch durch das Plasma permeiert.

Bei der mikroskopischen Prüfung habe ich beobachtet, dass die benutzten Antipyrinlösungen im Zellsaft augenblicklich eine bräunliche Fällung hervorriefen (vgl. Overton 1896, S. 397). In den Urotropinlösungen war die Trübung des Zellsaftes erst 30–60 Minuten nach dem Beginn des Versuches wahrnehmbar. Auch im Harnstoff konnte man zuweilen, bei längerer Versuchsdauer (4 Stunden), eine schwache Fällung im Zellsaft konstatieren (vgl. Hofmeister 1935, S. 52). Die Ursache dieser Erscheinung ist offenbar, dass der im Zellsaft enthaltene Gerbstoff eine unvollständige Fällung der obigen Basen, ihrer Zersetzungsprodukte oder beider zugleich hervorruft (vgl. Overton 1896, S. 398–; s. auch Tröndle 1920, S. 277, Versuch mit $(NH_4)_2CO_3$, und weiter unten in der vorl. Untersuchung).

Ferner konnte ich beobachten, dass einige der untersuchten Stoffe auf *Spirogyra* schädlich eingewirkt haben. So führte das Propionamid in seinen Lösungen schon binnen 30 Minuten nach Versuchsbeginn Veränderungen in den Chromatophoren herbei, die in kleine Stücke zerfielen, in ihrer Gesamtheit oder nur am einen Ende anschwollen, ihre schraubige Form verloren oder ganz diffus werden konnten. Auch im Urotropin traten gleichzeitig mit der Trübung des Zellsaftes oder etwas danach Veränderungen der Chromatophoren auf. Eine ähnliche Wirkung hatte auch der Harnstoff; zwar war diese erst nach 2–4 Stunden zu beobachten, immerhin aber früher, öfter und deutlicher als die Trübung des Zellsaftes. Speziell hinsichtlich des Urotropins lässt sich denken, dass es einer teilweisen Zersetzung unterliegt, wobei es entweder in- oder ausserhalb der Zelle zur Bil-

dung von Formaldehyd kommt, das eine Schädigung der Zellen verursacht und dadurch das Eindringen des Urotropins in dieselben begünstigt, während man hingegen beim Propionamid und Harnstoff recht wahrscheinlich auf eine direkte Giftwirkung dieser Stoffe schliessen dürfte (s. WEBER 1931, S. 130, und 1932, S. 179; vgl. auch COLLANDER & BÄRLUND 1933, S. 22). Die von WEBER (1931) erwähnten Unterschiede in der Harnstoffpermeabilität und Harnstoffresistenz der einzelnen *Spirogyra*-Zellen habe ich in meinem Versuchsmaterial nicht beobachtet.

Dem Obigen zufolge war es absolut notwendig, durch besondere Nachbeobachtungen die Einwirkung der benutzten Verbindungen auf die Zellen von *Spirogyra* zu kontrollieren. Hierbei stellte sich heraus, dass, nachdem der Gleichgewichtszustand in bezug auf den zu untersuchenden Stoff erreicht war, sich der osmotische Wert des Zellsaftes in vielen Lösungen bei mehreren aufeinanderfolgenden Beobachtungen praktisch unverändert hielt, dem ursprünglichen Rohrzuckerwert des Zellsaftes + der Aussenkonzentration des zu untersuchenden Stoffes entsprechend. Auch die später zu erörternden Versuche mit Glyzerin und Malonamid über die Permeation in entgegengesetzten Richtungen, desgleichen die Beobachtungen, nach denen die Permeation der untersuchten Verbindungen in die Zellen von *Spirogyra* dem FICKschen Diffusionsgesetz folgt, bezeugen an ihrem Teil, dass sich diese in den Lösungen der meisten untersuchten Stoffe während der Dauer der Versuche normal erhalten, wenn auch freilich die entgegengesetzte Möglichkeit stets im Auge zu behalten ist.

Aus obiger Darlegung dürfte hervorgegangen sein, dass sich die Permeationsgeschwindigkeit derjenigen Verbindungen am genauesten hat ermitteln lassen, die zugleich möglichst schnell die Zellwand und verhältnismässig langsam das Protoplasma durchdringen und in deren Lösungen die Zellen am längsten in normalem Zustand verharren. Von den benutzten Verbindungen entsprechen Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Methylharnstoff und vielleicht auch Äthylenglykol am besten den gestellten Bedingungen. In den übrigen Fällen ist die Einwirkung der Fehlerquellen auf die experimentell ermittelten Permeationsgeschwindigkeiten nach Möglichkeit genau zu erwägen.

Allgemeiner Verlauf der Permeation. — Ehe es möglich ist, über die Permeation der untersuchten Stoffe in die Zellen von *Spirogyra* eine

allgemeine Entscheidung zu treffen, erfordert zunächst der Gleichgewichtszustand, welchem der Permeationsprozess entgegenstrebt, seine Klarlegung. Wie aus den Versuchsergebnissen hervorgehen dürfte, stellt sich nach einer bestimmten Zeit die Konzentration des Trimethylzitrats, Propionamids, Azetamids, Äthylenglykols, Methylharnstoffs, Harnstoffs und des Glyzerins innerhalb der Zelle praktisch auf den gleichen Wert wie in der Aussenlösung ein und verbleibt von hier an so lange unverändert, wie der normale Zustand der Zellen in den untersuchten Lösungen anhält. (Die experimentell ermittelten unbedeutenden negativen ω-Werte, nach denen der osmotische Wert des Zellsaftes am Ende des Versuches sowie bei der Nachprüfung ein wenig höher sein würde als zu Beginn des Versuches, liessen sich vielleicht darauf zurückführen, dass ja die Bestimmung des Plasmolysegrades durch Abschätzen bei 10%iger Genauigkeit geschieht, was an sich schon mit einer Fehlermöglichkeit von 0.02–0.03 in sämtlichen angeführten ω-Werten gleichbedeutend ist.) Bei Stoffen, die langsamer als das Glyzerin permeieren (Malonamid, Erythrit), oft auch bei diesem selbst, wird innerhalb von 24 Stunden der Gleichgewichtszustand noch nicht völlig erreicht. Ihre Plasmolysekurven nähern sich aber der x-Achse asymptotisch.

Alles Obige gibt an die Hand, dass der Gleichgewichtszustand, dem der Permeationsprozess in den Lösungen der untersuchten Verbindungen entgegenstrebt, erreicht sein dürfte, wenn die Konzentration des betr. Stoffes im Zellsaft die gleiche ist wie in der Aussenlösung. Demnach lässt sich die Konzentrationsdifferenz zwischen Zellsaft und Aussenlösung als direktes Mass des Aktivitätsgefälles ansprechen.

Um zu sehen, inwieweit der zeitliche Verlauf der Permeation dem Diffusionsgesetz von FICK entspricht, habe ich in der Abbildung 4 vier theoretische Kurven hinzugefügt, die ich in derselben Weise erhalten habe wie die entsprechenden Kurven in Abb. 2. Eine Betrachtung der Kurven, sowohl der experimentellen als der theoretischen, legt eine überraschende Übereinstimmung in ihrem allgemeinen Verlauf an den Tag. In ihrem ersten Abschnitt unterscheiden sich die Kurven allerdings wesentlich voneinander, und zwar in derselben Weise und auch aus denselben Gründen wie bei *Licmophora*. Aus ihrem übrigen Verlauf erhellt, dass die Harnstoffkurve nach 30 Minuten und die Methylharnstoffkurve, desgleichen die Äthylenglykolkurve

nach 15 Minuten den entsprechenden Diffusionskurven $P' = 1$, $P' = 2$ und $P' = 3$ mit überraschender Regelmässigkeit folgen. Kleinere Abweichungen sind allerdings zu verzeichnen, sie lassen sich aber leicht auf Versuchsfehler zurückführen.

Um die Natur der Permeation der untersuchten Stoffe auch von einer anderen Seite beleuchten zu können, habe ich auch die Exosmose von Malonamid und Glyzerin untersucht und einen orientierenden Versuch über die Endosmose des Azetamids bei gleichzeitiger Exosmose des Propionamids angestellt.

Bei den Exosmoseversuchen mit Malonamid und Glyzerin durften die Zellfäden zuerst 22 Stunden in der Lösungsreihe I des betr. Stoffes liegen und wurden dann in Reihe III übergeführt, in welcher nun die Bestimmung des osmotischen Wertes des Zellsaftes nach 15 Minuten, 1, 2, 4, 8 und 22 Stunden erfolgte. Das Eindringen dieser Verbindungen wurde am ersten Tage mit gleichen Fäden untersucht.

Die Versuche ergaben folgende Resultate:

29.–30. VII. 34. Temp. 22.0° C. C — 0.330 GM.

Zeit	15′	60′	120′	240′	480′	22 St.	
C_1	0.154	0.166	0.180	0.201	0.232	0.260	GM S + 0.2 GM Malonamid
»	0.443	0.434	0.423	0.413	0.400	0.362	» S beim Austreten des Malonamids
»	0.508	0.483	0.464	0.433	0.400	0.344	» S » » des Glyzerins

2.–3. VIII. 34. Temp. 22.0° C. C = 0.363 GM.

C_1	0.183	0.200	0.218	0.250	0.302	0.358	GM S + 0.2 GM Glyzerin
»	0.551	0.530	0.506	0.466	0.422	0.366	» S beim Austreten des Glyzerins

Auf der Grundlage dieser Versuchsresultate habe ich die in Abb. 5 wiedergegebenen Plasmolysekurven gezeichnet. Die mit einem Kreis (○) bezeichneten Kurven beziehen sich auf gleichzeitig ausgeführte Versuche, ebenso ihrerseits die mit einem Kreuzchen (×) bezeichneten. Voll ausgezogen sind die auf den Eintritt, gestrichelt die auf den Austritt bezüglichen Kurven. Man stellt fest, dass sowohl beim Malonamid wie beim Glyzerin das Eindringen mit der gleichen Geschwindigkeit stattfindet wie der Austritt. Auch Overton (1895, S. 184) hat bei *Spirogyra* gefunden, dass Glyzerin, Harnstoff und Erythrit »in beiden Richtungen die Plasmahäute gleich leicht passieren». In Abb. 5 habe ich noch zwei theoretische

Kurven aufgenommen. Ein Vergleich der experimentell ermittelten Kurven mit diesen zeigt bei den Malonamidkurven einen etwas weniger steilen Verlauf, als ihn die Diffusionskurven aufweisen, die Glyzerinkurven folgen aber nach 1–2 Stunden treu dem Verlauf der Diffusionskurven $P' = 0.1$ und $P' = 0.2$.

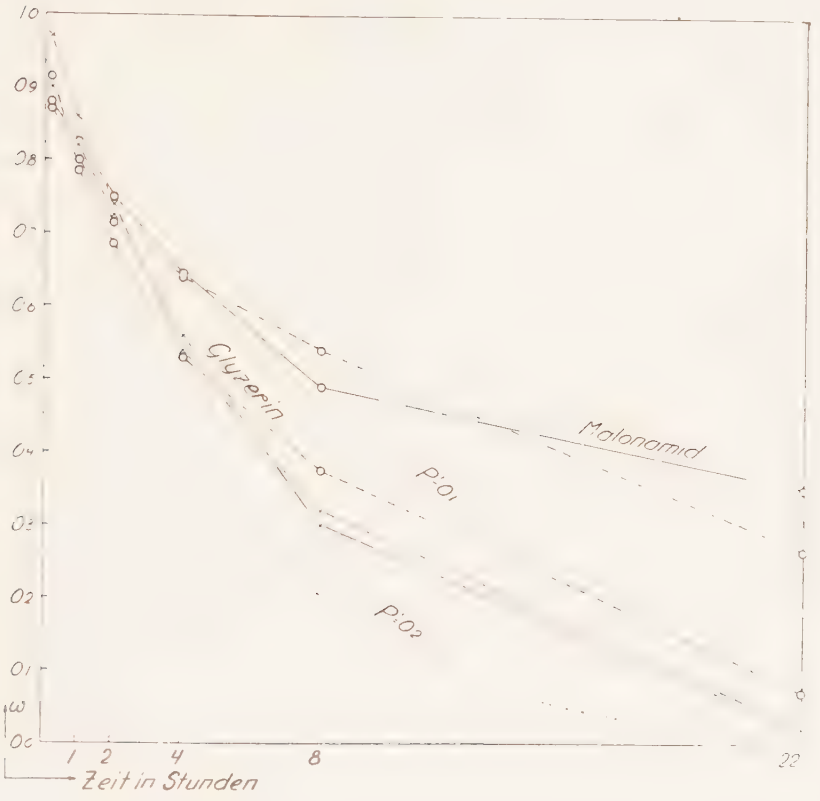


Abb. 5. Plasmolysekurven für *Spirogyra* beim Eindringen und Austreten von Malonamid und Glyzerin, II.

Im Azetamid-Propionamidversuch lagen die *Spirogyra*-Fäden zuerst 30 Minuten lang in einer 0.28-mol. Saccharoselösung und wurden von hier in eine Propionamid-Saccharoselösung zu 0.5 + 0.28 GM gebracht. Nach 4 Minuten war die Deplasmolyse vollständig. Nun wurden die Fäden in eine entsprechende Azetamid-Saccharoselösung übergeführt. Noch nach 20 Sekunden war keine wahr-

nehmbare Plasmolyse eingetreten, wohl aber nach 45 Sekunden bis 1 Minute. Nach 2 Minuten herrschte allgemeine Plasmolyse, und nach 8 Minuten wurde der Plasmolysegrad 20–30 % verzeichnet. — Auf Grund des Versuches kann direkt geschlossen werden, dass das Propionamid aus den *Spirogyra*-Zellen rascher herauspermeiert als das Azetamid in dieselben hinein, da die Plasmolyse nach der Überführung in die Azetamid-Saccharoselösung kräftiger wurde. Es mag erwähnt werden, dass die unvollständigen Beobachtungen eines dem vorigen entsprechenden Versuches darauf hindeuten, dass das Propionamid rascher in die Zellen hineindringt als das Azetamid aus ihnen heraus.

Fasst man das Obige zusammen, so kann ausgeprochen werden, dass sich die Permeation aller in dieser Hinsicht geprüften Verbindungen in die Zellen von *Spirogyra* ihrem Charakter nach als ein einfacher Diffusionsvorgang ergeben hat, der sich nach dem Fickschen Diffusionsgesetz abspielt. Doch auch betreffs der anderen hier benutzten Stoffe liegt kein Anlass zur Annahme einer abweichenden Permeation derselben in die *Spirogyra*-Zellen vor. Zu einem entsprechenden Ergebnis ist auch Tröndle (1920, S. 284) bei seiner Untersuchung über das Eindringen von Chinin, Koffein und Piperidin in *Spirogyra*-Zellen gelangt. Die Versuche ergaben nämlich, »dass das Produkt aus Fällungszeit und Aussenkonzentration weitgehend konstant ist, wie das nach dem Fickschen Gesetz zu erwarten war.»

Die Permeabilitätseigenschaften. — Die für *Spirogyra* berechneten Permeationskonstanten finden wir in Tab. 9 zusammengestellt. Einem Zellvolumen von 1 cm^3 entspricht bei der untersuchten *Spirogyra*-Art eine Diffusionsfläche von etwa 1,750 cm^2, und es ist mithin $P = P' : 1{,}750$.

Ein Vergleich der Permeationskonstanten von *Spirogyra*, den beiden *Zygnema*-Arten und *Chara* untereinander gibt zu erkennen, dass ihre Permeabilitätseigenschaften im grossen und ganzen recht ähnlich sind. Doch sind auch deutliche Unterschiede zu verzeichnen.

An erster Stelle sind die gegenseitigen Permeationsverhältnisse des Harnstoffs und Glyzerins zu erwähnen. Bei *Zygnema* von Hofmeister permeiert der Harnstoff etwas langsamer als das Glyzerin, während er bei den anderen Objekten 5–6mal so rasch wie das Glyzerin in die Zellen eindringt (vgl. S. 51). Ausgeprägter sind jedoch die Unterschiede in bezug auf das absolute Mass der Permeabilität.

Tabelle 9. Permeabilitätsreihe für *Spirogyra* mit denjenigen für *Zygnema* (nach Hofmeister und nach Marklund) und für *Chara* (nach Collander & Bärlund) verglichen.

Spirogyra				*Zygnema* (Hofmeister)	*Zygnema* (Marklund)	*Chara*	Substanz	Für Glyzerin = 1			
ω	t (Min.)	P′	P · 10^4	P · 10^4	P · 10^4	P · 10^4		*Spirogyra*	*Zygnema* (Hofmeister)	*Zygnema* (Marklund)	*Chara*
0.1	5	28	160		380	1300	Propionamid .	150		1410	180
0.2	6	16	92		230	530	Azetamid ..	84		860	72
0.2	14	16.9	40	75	90	430	Äthylenglyk.	36	36	340	58
0.2	53	6.8	10	5.9	5.2	68	Methylharnst.	9.1	2.8	20	9.2
0.5	41	1.0	5.8	1.6	1.7	40	Harnstoff....	5.3	0.76	6.3	5.4
0.5	76	0.55	3.2		0.27	26	Urotropin ..	2.9		1	3.5
0.5	220	0.19	1.1	2.1	0.27	7.4	Glyzerin	1	1	1	1
0.5	480	0.084	0.48	0.41	0.27	1.4	Malonamid ..	0.44	0.2	1	0.19
0.53	1440	0.022	0.13	0.05	0.06	0.46	Erythrit	0.12	0.024	0.21	0.062
0.89	1440	0.0051	0.029		0.019	<0.3	Saccharose ...	0.026		0.07	<0.04

Der gegenseitige Unterschied der Permeabilitätsreihen für *Chara* und *Spirogyra* ist bei allen Stoffen fast durchweg der gleiche. Die meisten Verbindungen permeieren nämlich 6–8mal, nur das Äthylenglykol 11 mal und das Malonamid und Erythrit 3–4mal rascher in die Zellen von *Chara* als in diejenigen von *Spirogyra* hinein. Dagegen sind die Unterschiede zwischen *Spirogyra* und der von Marklund untersuchten *Zygnema* geringer.

Die gegenseitigen Unterschiede der Permeabilitätsreihen für *Spirogyra* ung *Chara* finden wohl ihre einfachste Erklärung durch die Annahme einer grösseren Dicke der Plasmahäute bei *Spirogyra*, die es mit sich bringt, dass sämtliche Stoffe durch sie relativ ebenso viel langsamer permeieren als durch die Plasmahäute von *Chara*.

VI. CERAMIUM DIAPHANUM.

Allgemeines. — Es war vom höchsten Interesse, der Schar meiner Versuchsobjekte auch eine Rotalge anzuschliessen, da über die Permeabilitätsverhältnisse dieser Algengruppe vorläufig noch gar nichts bekannt war. — Die mir dabei als Versuchsobjekt dienende Rotalgenart, *Ceramium diaphanum*, tritt zur Herbstzeit in grosser Reichlichkeit im Finnischen Meerbusen als Epiphyt auf *Fucus vesiculosus* in etwa 3–4 m Tiefe auf. Die Rotalgenbüschel, die ich an kleinen Stücken ihrer Unterlage festsitzen liess, wurden in Glasgefässen mit Standortswasser auf dem Tische meines Arbeitsraumes aufbewahrt. Da die Erfahrung bald zeigte, dass sich das *Ceramium*-Material im Laboratorium nicht lange frisch zu erhalten vermochte, holte ich mir jeden zweiten Tag neues.

Versuchsmethodik. — Schon die allerersten Versuche gaben zu erkennen, dass sich *Ceramium* ebenso wenig wie die meisten anderen Rotalgen (Kotte 1914; Walter 1923; Höfler 1930 und 1931; Bünning 1935) zu plasmolytischen Versuchen eignete. Es galt deshalb, eine andere Untersuchungsmethode zu wählen, und am nächsten lag dabei die Turgorverkürzungsmethode, die in verschiedenen Modifikationen z. B. von Krabbe (1896), Lundegårdh (1911), Hoffmann (1932) und v. Hofe (1933) zu Permeabilitätsbestimmungen verwendet worden ist.

Das Prinzip des von mir benutzten Verfahrens ist das folgende: An der in künstlichem Brackwasser liegenden Alge wird der Abstand zweier leicht wiederzuerkennender Punkte genau gemessen, worauf die Alge in Brackwasser versetzt wird, das eine bekannte Konzentration der auf ihr Permeationsvermögen hin zu prüfenden Substanz enthält. Die wasserentziehende Wirkung dieses Zusatzes fällt natürlich um so stärker und nachhaltiger aus, je langsamer die betreffende Substanz in die Zellen eindringt. Durch Messung des zeitlichen Verlaufs der Verkürzung und Wiederausdehnung der Alge in äquimole-

kularen Lösungen verschiedener Substanzen müssen sich also die Permeationsgeschwindigkeiten dieser Stoffe vergleichend bestimmen lassen.

Da sich diese Methode auf die elastischen Eigenschaften der Zellwand des Versuchsobjektes basierte, war es, wie schon Oppenheimer (1930), Pringsheim (1931) und v. Hofe (1933) hervorgehoben haben, unbedingt notwendig, sich schon vor den Versuchen den Dehnungsmechanismus der Zellwand klarzumachen. Es handelte sich also darum zu erfahren, wie sich die Verkürzung und die Verlängerung des Algenkörpers zueinander verhalten und welches der Einfluss der Aussenlösung auf die Dehnbarkeit der Zellwände ist.

Aus dem nachstehenden Versuchsprotokoll geht hervor, dass die Turgordehnung der Zellen selbst, beurteilt nach der in 0.5-mol. Saccharoselösung gemessenen Thallusverkürzung, keinen grösseren Schwankungen unterworfen war. Die Verkürzung variierte bei 2.5–3.5 % von der totalen gemessenen Länge des Thallusabschnittes. Die maximale elastische Verkürzung — bei Plasmolyse — beläuft sich nach Kotte (1914, S. 125) und Hoffmann (1932, Tab. 9, S. 429) auf 6 % und ist in den apikalen Thallusteilen im allgemeinen grösser als in den basalen. Ferner ergibt sich, dass die gemessenen Thallusabschnitte, von neuem in Meerwasser gelegt, sich bis zur ursprünglichen Länge wieder ausdehnen, wenn sie nur so lange (10–15 Minuten) in der 0.5-mol. Rohrzuckerlösung verweilen, wie die Erreichung des osmotischen Gleichgewichtszustandes zwischen Zellinhalt und Saccharoselösung erfordert. Dasselbe ist, wie aus Tab. 10 hervorgeht, der Fall, wenn die Fäden aus dem Meerwasser für 5–8 Minuten in eine 0.5-mol. Glyzerinlösung und von hier wieder zurück in das Meerwasser, dann für 5–8 Minuten in eine Harnstofflösung von der gleichen Konzentration, von hier über Meerwasser noch einmal für 5–8 Minuten in Glyzerin und von dort schliesslich über Meerwasser und Harnstoff endgültig zurück ins Meerwasser versetzt werden (im Meerwasser durften die Fäden jedesmal 15 Minuten verweilen). Einen ähnlichen Versuch, der zu übereinstimmenden Ergebnissen führte, unternahm ich auch mit Harnstoff (0.5 GM) und Methylharnstoff (0.5 GM).

Tabelle 10. Länge (in Mikrometerskalenteilen angegeben) der Thallusabschnitte von *Ceramium* in 0.5 mol. Glyzerin- bzw. Harnstofflösung sowie in künstlichem Brackwasser.

Wasser	0.5-mol. Glyzerin	Wasser	0.5-mol. Harnstoff	Wasser	0.5-mol. Glyzerin	Wasser	0.5-mol. Harnstoff	Wasser
85	83 1/4	85	83 1/3	85	83 1/4	85	83 1/2	85
94 3/4	93	94 3/4	93 1/4	94 3/4	93	94 3/4	93 1/3	94 3/4
84	82 2/3	84	82 2/3	84	82 2/3	84	83	84
95 1/4	93 3/4	95 1/4	94	95 1/4	93 3/4	95 1/4	94	95 1/3
95	93	95 1/4	93 1/4	95 1/4	93	95 1/4	93 1/3	95 1/4

Ausser den obigen führte ich auch einige längere Versuche aus, in denen die gemessenen Thallusabschnitte zuerst 24 Stunden in künstlichem Brackwasser, 0.2-mol. Glyzerin- oder 0.5-mol. Äthylenglykollösung und danach in einer 0.5-mol. Saccharoselösung liegen durften. Die erfolgten Messungen gaben an die Hand, dass die Objekte sich in den untersuchten Lösungen praktisch ebenso viel verlängert hatten (s. S. 73) und sich danach in der 0.5-mol. Saccharoselösung wieder ganz normal verkürzten.

Die Versuchsresultate lassen erkennen, dass sowohl die Verkürzung als die Verlängerung der Thallusabschnitte in der gleichen Weise abzulaufen scheinen und dass den untersuchten Verbindungen während der Versuchszeit kein wahrnehmbarer Einfluss auf die elastischen Eigenschaften der Zellwände zukommt.

Die Einzelheiten der Permeabilitätsbestimmungsversuche erhellen aus folgendem:

Die Lösungen der zu untersuchenden Verbindungen wurden volumnormal hergestellt. Ihre Konzentration betrug für gewöhnlich 0.5 GM, die der Trimethylzitratlösung jedoch 0.25 GM und in einigen Versuchen die der Azetamid-, Propionamid- und Antipyrinlösungen 1.0 GM. Im übrigen verfuhr ich wie vorher. Als Lösungsmittel diente ähnliches künstliches Brackwasser (im folgenden überall der Kürze halber einfach Brackwasser genannt) wie in den Versuchen mit *Licmophora*.

Aus dem Standortswasser wurden einige *Fucus*-Stücke nebst anhaftenden Rotalgenfäden in ein Glasgefäss mit Brackwasser versetzt, in welchem ich von der Rotalge schöne, mit Endzweigen und geraden Verzweigungen versehene Thallusstücke abpräparierte. Ein solches Stück wurde dann in einen Wassertropfen unter das Mikroskop gebracht (Deckgläschen gestützt; vgl. Bünning 1935, S. 450–). An jedem Algenstück mass ich nun gewöhnlich an 6 verschiedenen Punkten einen Fadenabschnitt ab, nie aber aus der Nähe der Schnittfläche (vgl. Bünning l. c., S. 451); bei der Passage der Algenstücke aus einer Lösung in die andere berührte ich mit der Pinzette stets nur diesen Teil. Gleichzeitig entwarf ich über die gemessenen Thallusabschnitte eine skizzenhafte Abbildung, um die betr. Stellen während der Versuche stets sicher wiedererkennen zu können. Unmittelbar nach den Messungen wurde das Objekt in eine 0.5-mol. Saccharoselösung übergeführt, wo es bis zur Erreichung des osmotischen Gleichgewichtszustandes zwischen der Rohrzuckerlösung und dem Zellsaft 10 Minuten liegen musste. Nun wurden die Fadenabschnitte von neuem gemessen und in dieser Weise das Mass ihrer Verkürzung in der Rohrzuckerlösung ermittelt. Aus dieser gelangte das Algenstück zurück in das Brackwasser, in welchem die gemessenen Thallusabschnitte sich wieder zu ihrer ursprünglichen Länge ausdehnten. Nachdem das geschehen war, wurde das Objekt endlich in die zu untersuchende Lösung gebracht und in dieser nach 5 und 30 Minuten, 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden die gleichen Thallusabschnitte gemessen. Ausserdem unternahm ich Messungen auch 1, 2, 5, 8, 16 und 30 Minuten nach Versuchsbeginn, um zu erfahren, wie lange Zeit die Erreichung der minimalen Länge des Thallusabschnittes in der Versuchslösung erfor-

derte. Bei diesen Messungen verfuhr ich entweder wie oben oder versetzte das Algenstück aus der Saccharoselösung direkt in die Versuchslösung.

Da das Trimethylzitrat nicht genügend wasserlöslich war und sich das Antipyrin bei höheren Konzentrationen als äusserst schädlich erwies, untersuchte ich diese Stoffe nach dem Partialdruckverfahren. In diesen Versuchen durfte das Objekt zuerst 15 Minuten in einer 0.15-mol. Saccharoselösung liegen, in welcher sich die gemessenen Teile eben wahrnehmbar verkürzten (s. Tab. 11, S. 78). Dann wurde es in die kombinierte Lösung (0.15 GM Saccharose + 0.25 GM Trimethylzitrat oder 1.0 GM Antipyrin) versetzt, in welcher die Längenmessungen nach 1, 2, 5, 8 und 16 Minuten erfolgten.

Bei sämtlichen Messungen wurden angewandt: Leitz Objektiv 3 und Mikrometerokular 2 (1 Skalenteil = 0.018 mm). Die Messungen wurden gewöhnlich mit der Genauigkeit eines Skalenteilviertels ausgeführt. Dabei berücksichtigte ich nach dem Vorgang v. Hofes (1933, S. 359) nur die Längenveränderungen des Objektes, weil die zu Gebote stehenden Messgeräte eine sichere Erfassung der Breitendifferenzen nicht zuliessen.

Aus früher bereits erörterten Gründen studierte ich die Längenveränderungen der Thallusabschnitte gleichzeitig in mindestens zwei oder drei verschiedenen Lösungen. — Die Temperatur hat während der Versuche nur wenig, bei 18.0°–19.0° C variiert.

Die Versuchsergebnisse. — Nachstehend werden in verkürzter Form nur die Resultate derjenigen Versuche wiedergegeben, an die anschliessend sämtliche erforderlichen Messungen und Beobachtungen angestellt wurden. In der ersten senkrechten Reihe des Versuchsprotokolls ist in Prozenten die mittlere maximale absolute Verkürzung der 6 gemessenen Thallusabschnitte in 0.5-mol. Saccharoselösung angegeben. Mit einem * sind diejenigen Versuche bezeichnet, in denen das Objekt aus der Saccharoselösung direkt in die Lösung der zu untersuchenden Verbindung versetzt wurde; in diesen Versuchen wurden gewöhnlich nur 2–3 Thallusabschnitte gemessen. In den folgenden Reihen geben die Zahlenwerte die Verkürzung der Thallusabschnitte zu bestimmten Zeitpunkten in den Lösungen der zu prüfenden Verbindungen, in Prozenten ihrer durchschnittlichen, in der 0.5-mol. Rohrzuckerlösung gemessenen maximalen Verkürzung ausgedrückt, an. In der letzten Reihe endlich findet sich angeführt die Einwirkung der betr. Verbindung auf die Farbe der Chloroplasten.

An Hand der arithmetischen Prozentmittelwerte sind dann die Kurven der Abb. 6 und 7 gezeichnet worden. Es mag hierbei gleich vorausgeschickt werden, dass die Mittelwertkurven von der anormalen Einwirkung der untersuchten Verbindungen auf die Längenverän-

%	1′	2′	5′	8′	16′	30′	60′	120′	240′	480′	24 St.	Substanz	Deutliche Farbenänderung
25. X. 34. Temp. 19.6° C.													
3.1	75	83	92	100	100	100	—	100	100	96	83	0.5 GM Saccharose	
2.5	59	69	75	77	77	77	—	—	77	—	50	» » Glukose	
2.7*	88	83	75	76	76		—	—	—	—	—	» » »	
3.1	64	70	73	75	75	75	—	—	73	—	47	» » Mannit	
3.2*	92	92	83	78	78	—	—	—	—	—	—	» » »	
2.8	50	64	73	73	73	73	—	—	69	61	29	» » Erythrit	
2.5*	90	80	73	70	70	—	—	—	—	—	—	» » »	
2.6	49	56	67	69	64	58	39	3	—17	49	125	» » Malonamid	in 240 Minuten
2.6*	80	69	65	65	61		—	—	—	—	—	» » »	
2.5	40	55	64	66	60	52	44	35	24	7	—7	» » Glyzerin	
2.5*	80	70	65	64	58		—	—		—		» » »	
9. X. 34. Temp. 18.5° C.													
3.5	56	69	75	77	77	77	—	—	75	—	51	» » Mannit	
3.0*	100	92	83	75	75	—	—	—	—	—	—	» » »	
3.0	47	57	66	69	60	56	35	9	—36	—30	—	» » Malonamid	in 240 Minuten
3.2*	85	72	69	69	62	56	34	8	—33	—	—	» » »	
24. X. 34. Temp. 18.5° C.													
2.8	46	64	73	75	75	75	—	—	73	66	25	» » Erythrit	
2.6	60	65	70	75	—	51	30	15	3	—2	35	» » Urotropin	in 480 Minuten
2.5*	83	76	73	73	—	—	—	—		—	—	» » »	
2.9	40	60	62	65	62	57	50	41	23	6	—5	» » Glyzerin	
3.0*	83	75	67	67	63	—	—	—	—	—	—	» » »	
3.1	30	47	57	50	44	37	25	16	0	—8	—81	» » Harnstoff	in 480 Minuten
2.5*	67	61	55	50	43		—					» » »	

23. X. 34. Temp. 18.° C.															
2.9	—	—	77	—	—	55	31	15	—3	—	30	0.5 GM	Urotropin	in 24 Stunden	
2.9	30	44	60	55	50	44	31	14	0	—11	—74	» »	Harnstoff	in 480 Minuten	
3.0*	77	74	64	58	53	—	—	—	—	—	—	» »	»		
3.3	33	46	42	37	31	21	6	0	—3	—	—46	» »	Methylharnstoff	in 24 Stunden	
3.2*	67	42	33	33	25	—	—	—	—	—	—	» »	»		
2.9	36	22	9	0	0	—	0	0	0	—	—	» »	Äthylenglykol		
2.8*	45	27	12	0	0	—	—	—	—5	—	—	» »	»		
12. X. 34. Temp. 18.° C.															
2.9	36	45	60	64	60	53	46	33	20	6	—6	» »	Glyzerin		
3.1*	98	86	75	60	58	—	—	—	—	—	—	» »	»		
3.1	44	54	56	53	48	44	34	20	3	—3	—13	» »	Harnstoff	in 24 Stunden	
3.0*	75	58	58	52	46	40	33	19	0	—4	—67	» »	»		
13. X. 34. Temp. 18.° C.															
3.1	33	44	52	50	43	35	27	19	5	—1	131	» »	Harnstoff	in 24 Stunden	
3.3*	71	64	52	50	42	34	24	18	—	—	—5	» »	»	» » »	
3.1	25	33	50	44	39	30	15	1	—2	—5	—43	» »	Methylharnstoff	» » »	
2.8*	90	75	60	47	40	22	10	0	—	—	—10	» »	»	» » »	
15. X. 34. Temp. 18.0° C.															
2.2	—	—	46	—	—	26	12	0	—1	—5	—	» »	»	» » »	
2.6	44	35	22	7	0	0	—	—	0	0	—	» »	Äthylenglykol		
2.6*	62	48	33	16	1	—	0	—	0	0	—	» »	»		
3.1	38	17	0	0	—	—	—	—	—	—	—	» »	Azetamid		
2.6	83	76	42	0	0	0	—50	—	—	—88	—	1.0 GM	»	in 16 Minuten	
3.1*	75	63	38	0	0	—	—	—	—	—	—	» »	»	» » »	

18. X. 34. Temp. 18.5° C.

%	1′	2′	5′	8′	16′	30′	60′	120′	240′	480′	24 St.	Substanz	Deutliche Farbenänderung
2.5	30	20	5	0	—	—	—	—	—	—	—	0.5 GM Azetamid	in 16 Minuten
2.5*	60	40	10	0	0	—	—	—	—	—	—	» » »	» » »
2.7	84	63	40	15	0	—	—	—	—	—	—	1.0 GM »	» » »
3.5*	100	76	42	5	—15	—	—	—	—	—	—	» » »	» » »
2.7	20	6	0	—3	—	—	—	—	—	—	—	0.5 GM Propionamid	in 8 Minuten
2.9	43	28	5	—5	—	—	—	—	—	—	—	1.0 GM »	» » »
3.2*	74	43	4	—18	—81	—	42	—	—	—	—	» » »	» » »
3.0	0	0	36	180	220	—	—	—	—	—	—	» » Antipyrin	in 1 Minute

22. X. 34. Temp. 18.0° C.

3.5	53	33	15	0	0	—	0	—	—	—	—24	0.5 GM Äthylenglykol	
3.0	38	13	0	—10	—	—	—	—	—	—	—	» » Azetamid	in 8 Minuten
2.9*	44	23	0	—3	—	—	—	—	—	—	—	» » »	» » »
3.0	75	61	33	53	100	—	—	—	—	—	—	1.0 GM »	» » »
3.1*	94	48	0	—36	0	45	—	—	—	—	—	» » »	» » »
2.9	19	0	—33	—56	33	—	—	—	—	—	—	0.5 GM Propionamid	in 4 Minuten
3.1*	32	0	—16	—48	32	—	—	—	—	—	—	» » »	» » »
3.2	29	7	—17	—77	17	—	—	—	—	—	—	1.0 GM »	» » »
3.0*	33	0	—33	—58	33	—	—	—	—	—	—	» » »	» » »

20. X. 34. Temp. 18.6° C.

0	0	0	0	Beginnende Verkürzung der Thallusabschnitte nach 16 Minuten in				0.5 GM Antipyrin
0	0			»	»	»	»	5 » » 1.0 GM »
0	0			»	»	»	»	5 » » 0.15 GM Saccharose + 1.0 GM Antipyrin
0	0	0	0	0	0	0		0.15 GM Saccharose + 0.25 GM Trimethylzitrat

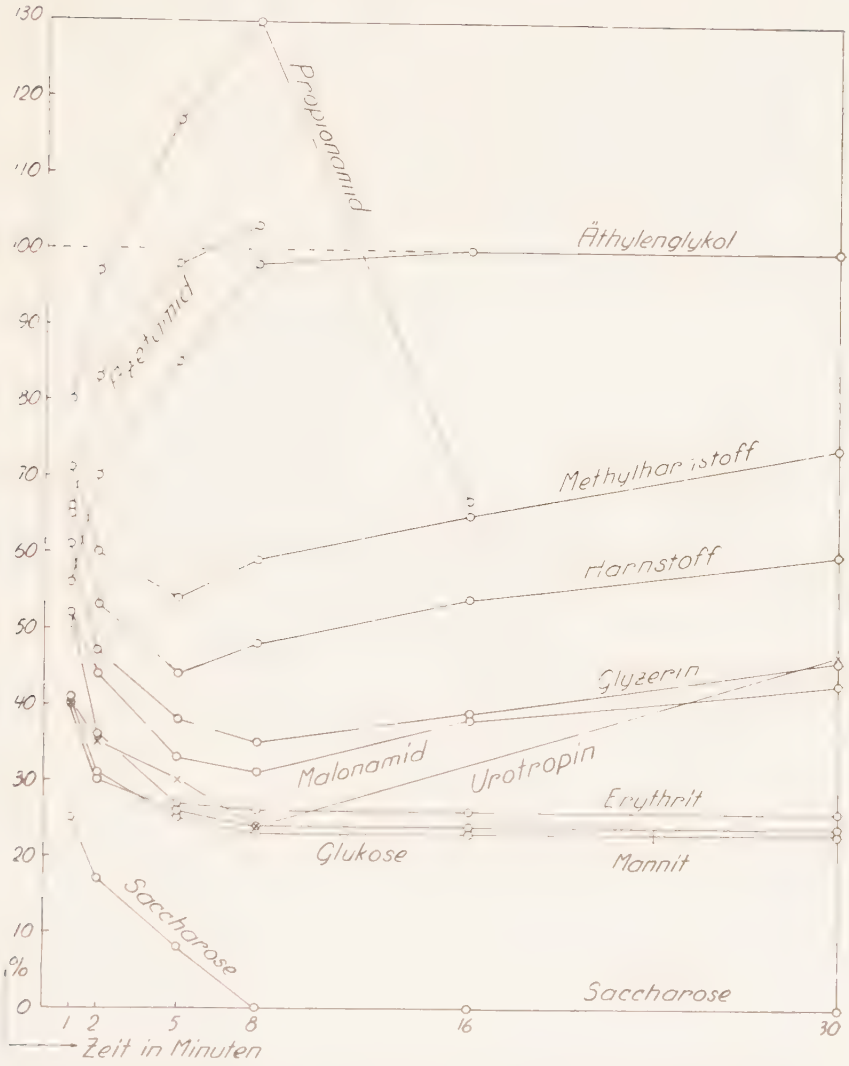


Abb. 6. Dehnungskurven für *Ceramium*, I. Längenveränderungen in Prozenten von der in äquimolarer Saccharoselösung hervorgerufenen maximalen Thallusverkürzung.

derungen der Thallusabschnitte kein so anschauliches Bild geben wie die auf die einzelnen Thallusabschnitte bezüglichen Messungen, denn die grössten Abweichungen haben sich ausgeglichen.

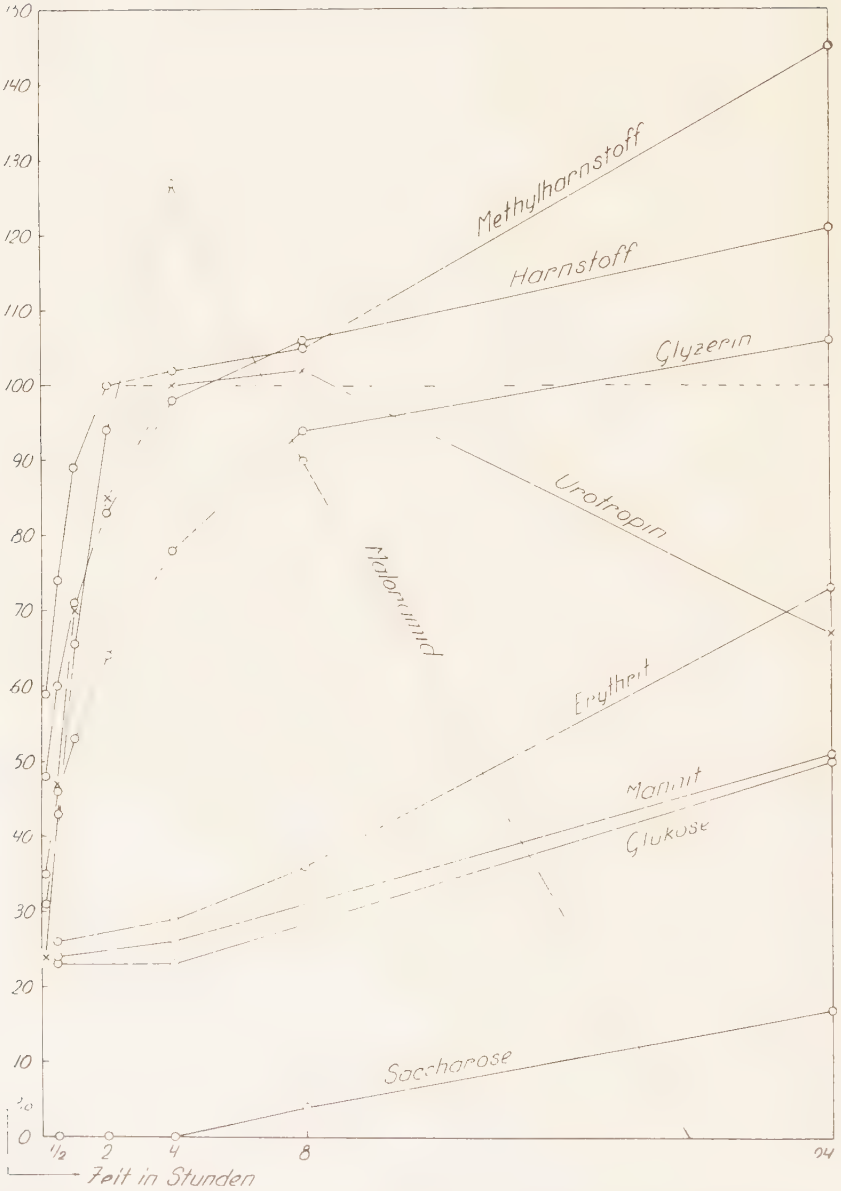


Abb. 7. Dehnungskurven für *Ceramium*, II. Längenveränderungen in Prozenten von der in äquimolarer Saccharoselösung hervorgerufenen maximalen Thallusverkürzung.

Fehlerquellen. — Die Längenzunahme der Thallusabschnitte während der Permeabilitätsbestimmungsversuche beruht nicht allein auf dem allmählichen Eindringen der zu prüfenden Verbindungen in die Zellen, sondern zum Teil auch auf Wachstumsprozessen, die auch während der Versuche fortdauern. Zur Klarlegung der durch das Zellenwachstum verursachten Verlängerung der Algenfäden habe ich einige Versuche ausgeführt. Die Objekte durften 24 Stunden in Brackwasser, 0.15-mol. Saccharose-, 0.2-mol. Glyzerin- oder 0.5-mol. Äthylenglykollösung liegen. Die Messungen ergaben folgende Resultate (Verlängerung in % der ursprünglichen gemessenen Länge):

Brackwasser: 1.0, 1.1, 0.9, 1.1, 1.1 %; Mittel 1.0 %.
Saccharoselösung: 0.8, 0.5, 0.5, 0.7 %; Mittel 0.6 %.
Glyzerinlösung: 0.8, 1.0, 1.0, 0.8, 1.1 %; Mittel 0.9 %.
Äthylenglykollösung: 0.8, 0.8, 1.1 %; Mittel 0.9 %.

Die während eines Tages festgestellte Thallusverlängerung läuft also im Brackwasser, in der 0.2-mol. Glyzerin- sowie in der 0.5-mol. Äthylenglykollösung praktisch auf das Gleiche, und zwar auf etwa 30 % von der durch die 0.5-mol. Saccharoselösung verursachten maximalen Verkürzung hinaus; in der Saccharoselösung stellen sich die Werte etwas niedriger, etwa 20 % entsprechend. Nach dem Versuch trat in 0.5-mol. Rohrzuckerlösung die gewöhnliche Verkürzung ein. Die festgestellte Verlängerung braucht nicht ausschliesslich durch das Zellenwachstum allein verursacht zu sein, doch scheint dies äusserst wahrscheinlich der Fall zu sein (vgl. WALTER 1923, S. 199, Versuche 32 und 33). Diese Befunde bringen indes noch keine endgültige Klarheit in die Frage nach der Beeinflussung der Versuchsergebnisse durch das Zellenwachstum als Fehlerfaktor, da letzteres in den eigentlichen Versuchslösungen höchst wahrscheinlich vom obigen abweicht. Immerhin ist es klar, dass diese Fehlerquelle nur im Falle der am allerlangsamsten permeierenden Substanzen ernstlich in Betracht kommt.

Andere, viel gefährlichere Fehlerquellen sind mit der Untersuchung der stickstoffhaltigen Verbindungen verknüpft. Sowohl mikro- als makroskopisch hat sich die Feststellung ergeben, dass durch die Lösungen sämtlicher stickstoffhaltiger Verbindungen früher oder später, wie es die letzte Kolumne des Versuchsprotokolls zeigt, in den Chloroplasten Farbenveränderungen herbeigeführt wer-

den (vgl. Höfler 1931, S. 52). Mit der Zeit nehmen die Chromatophoren oft auch eine kugelige Gestalt an (s. Höfler 1930, Abb. 1, S. 572, sowie S. 578). In der Antipyrinlösung z. B. werden die Chromatophoren schon in 1 Minute heller rosa, im Methylharnstoff tritt aber diese Farbenänderung wahrnehmbar erst nach 24 Stunden ein. Hand in Hand damit bekunden aber die Messungen eine erhebliche Verlängerung der Objekte, und zwar deutlich über den im Brackwasser erreichten Wert hinaus. Erst danach verkürzen sie sich wieder, und zwar oft etwas mehr als in der 0.5-mol. Saccharoselösung, was wohl als Zeichen eines endgültigen Todes zu betrachten ist.

Ein Blick auf die Abbildungen 6 und 7 zeigt in der Tat, dass der Verlauf der Kurven der stickstoffhaltigen Verbindungen vom Gewöhnlichen stark abweicht. Die Kurven (jedoch mit Ausnahme der Antipyrinkurve) schneiden nämlich früher oder später die x-Achse in zwei Punkten, was jedoch nicht in allen Kurven zum Ausdruck kommt, sei es, weil die zweite Überquerung erst später als 24 Stunden nach dem Versuchsbeginn eintritt (und also ausserhalb des Rahmens des wiedergegebenen Kurvenabschnittes fällt), oder deshalb, weil die Messungsergebnisse der verschiedenen Versuche wie auch der verschiedenen Thallusabschnitte ein und desselben Objektes variieren und sich gegenseitig ausgleichen. Die Ursachen der abnormen Verlängerung der Thallusabschnitte in den betreffenden Lösungen habe ich nicht ermittelt. Vielleicht hängen sie mit einer Beschädigung der Zellen zusammen. Möglicherweise handelt es sich auch um erhöhte Quellung der Zellwand (vgl. Kotte 1914, S. 127; Walter 1923, S. 183–; Höfler 1930, S. 571).

Beurteilt man nun auf der Grundlage des Angeführten die erhaltenen Versuchsresultate, so gelangt man unfehlbar zu dem Schluss, dass die Längenänderungen der Thallusabschnitte uns in den meisten Fällen nur ein recht ungenaues und zum Teil unsicheres Bild vom Eindringen der untersuchten Verbindungen in die Zellen von *Ceramium* geben. Nur in denjenigen Fällen, in welchen die Längenzunahme der Thallusfäden in der Hauptsache durch das Eindringen des Stoffes in die Zellen und daneben nur in geringerem Masse durch das Zellenwachstum bedingt ist, lässt sich die Permeationsgeschwindigkeit des betreffenden Stoffes mit relativ grosser Genauigkeit bestimmen. Von den benutzten Substanzen entsprechen den gestell-

ten Bedingungen am besten das Glyzerin und das Äthylenglykol. In den Lösungen der langsamer als das Glyzerin permeierenden stickstoffreien Verbindungen (Erythrit, Mannit, Glukose, Saccharose) kann die Thallusverlängerung vielleicht sogar zu einem grösseren Teil vom Zellenwachstum als von der Permeation herrühren. Die übrigen untersuchten Stoffe, mit Ausnahme des sehr rasch permeierenden Trimethylzitrats, sind stickstoffhaltig, und die mit ihnen ausgeführten Permeationsbestimmungen sind durch die früher erwähnten Fehlerquellen beeinflusst. Ein später anzustellender Vergleich zwischen den Permeabilitätsreihen für *Chara* und *Ceramium* zeigt indessen, dass die erhaltenen Versuchsresultate, mit nötiger Kritik behandelt, uns ein völlig glaubwürdiges Bild von den Permeabilitätsverhältnissen bei *Ceramium* geben können.

Die Durchlässigkeit der Protoplasten in entgegengesetzten Richtungen. — Um die Permeabilitätsverhältnisse der *Ceramium*-Zellen noch von einer anderen Seite zu beleuchten, habe ich auch einige Exosmoseversuche mit Äthylenglykol und Glyzerin ausgeführt.

In den Äthylenglykolversuchen durfte das Objekt zuerst 32 Minuten, d. h. bis zu seiner Wiederausdehnung auf die ursprüngliche Länge, in einer 0.5-mol. Äthylenglykollösung liegen, wurde dann für 64 Minuten in künstliches Brackwasser versetzt, um von dort wieder für 32 Minuten zurück in die Äthylenglykollösung zu kommen. Diese Manipulation wiederholte sich dreimal. Die Messungen erfolgten nach 1, 2, 4, 8, 16, 32 und 64 Minuten. In Abb. 8 finden wir die Ergebnisse eines dieser Versuche graphisch dargestellt.

Der Verlauf der Kurve gibt zu erkennen, dass die Wiederaus-

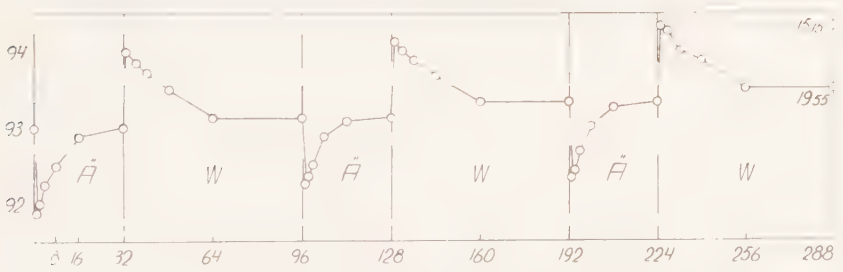


Abb. 8. Längenveränderungen gemessener Thallusabschnitte von *Ceramium* in 0.5-mol. Äthylenglykollösung (*Ä*) und Wasser (*W*). — Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Länge des Thallusabschnittes in Mikrometerskalenteilen.

dehnung des zunächst verkürzten Thallusfadens in der 0.5-mol. Äthylenglykollösung stets mit ungefähr der gleichen Geschwindigkeit erfolgt wie die nach dem Wiedereinlegen des Objekts in Wasser von neuem erfolgende Verkürzung; in beiden Fällen wird das Gleichgewicht der Längenänderungen in etwa 32 Minuten erreicht. Alles dies würde darauf deuten, dass Äthylenglykol mit der gleichen Schnelligkeit sowohl in die Zellen hinein- als aus diesen herauspermeiert. Zwar wirkt die nach der Überführung des Objekts in das Brackwasser eintretende geringe Überdehnung (vgl. Pringsheim 1931, z. B. S. 760 und 788) oder plastische Dehnung (v. Hofe 1933) dahin, dass der Thallusabschnitt in der Phase des Äthylenglykolaustritts nie die Länge wiedererlangt, die er im Augenblick der Überführung besessen hatte, sondern stets etwas länger bleibt. Ganz am rechten Rande der Abbildung stehen zwei Zeichen, deren gegenseitiger Abstand die während 19 Stunden erfolgte Längenzunahme angibt. Nach den Versuchen hat sich also das Wachstum der Zellen normal fortgesetzt.

In den Glyzerinversuchen lagen die Objekte vor ihrer Versetzung in das Brackwasser 4 oder 24 Stunden in einer 0.5-mol. Glyzerinlösung. Die Längenmessungen fanden nach 5 und 30 Minuten, 1, 2, 4, 8 und 24 Stunden statt. Einen Teil der Versuchsresultate gibt Abb. 9 in graphischer Darstellung wieder. — Die ursprünglichen Längen der gemessenen Thallusabschnitte waren im Brackwasser 99, 98 und 90, ihre Längen zu Beginn des Versuches in der Glyzerinlösung 96 $^1/_4$, 94 $^3/_4$ und 87. Am Ende des Versuches wurde als Länge des ersten Thallusabschnittes (I) in 0.5-mol. Saccharoselösung 97 $^1/_4$ festgestellt. Die Verkürzung dieses Thallusabschnittes hat also in der Saccharoselösung während des Versuches 2 $^3/_4$ und am Ende desselben 4 betragen.

Die Abbildung 9 erweckt den Anschein, als permeiere das Glyzerin langsamer aus den Zellen heraus als in dieselben hinein. Das braucht aber nun in Wirklichkeit nicht der Fall zu sein. In Brackwasser versetzt, überschreiten die Thallusabschnitte ihre ursprüngliche Länge mehr und während einer längeren Zeit als im Äthylenglykolversuch. Das kann zur Folge haben, dass der Einfluss der plastischen Dehnung auf die Dehnbarkeit der Zellwände im Glyzerinversuch grösser ist als im Äthylenglykolversuch. Ferner kann die in der Glyzerinlösung konstatierte Verlängerung zum Teil auch

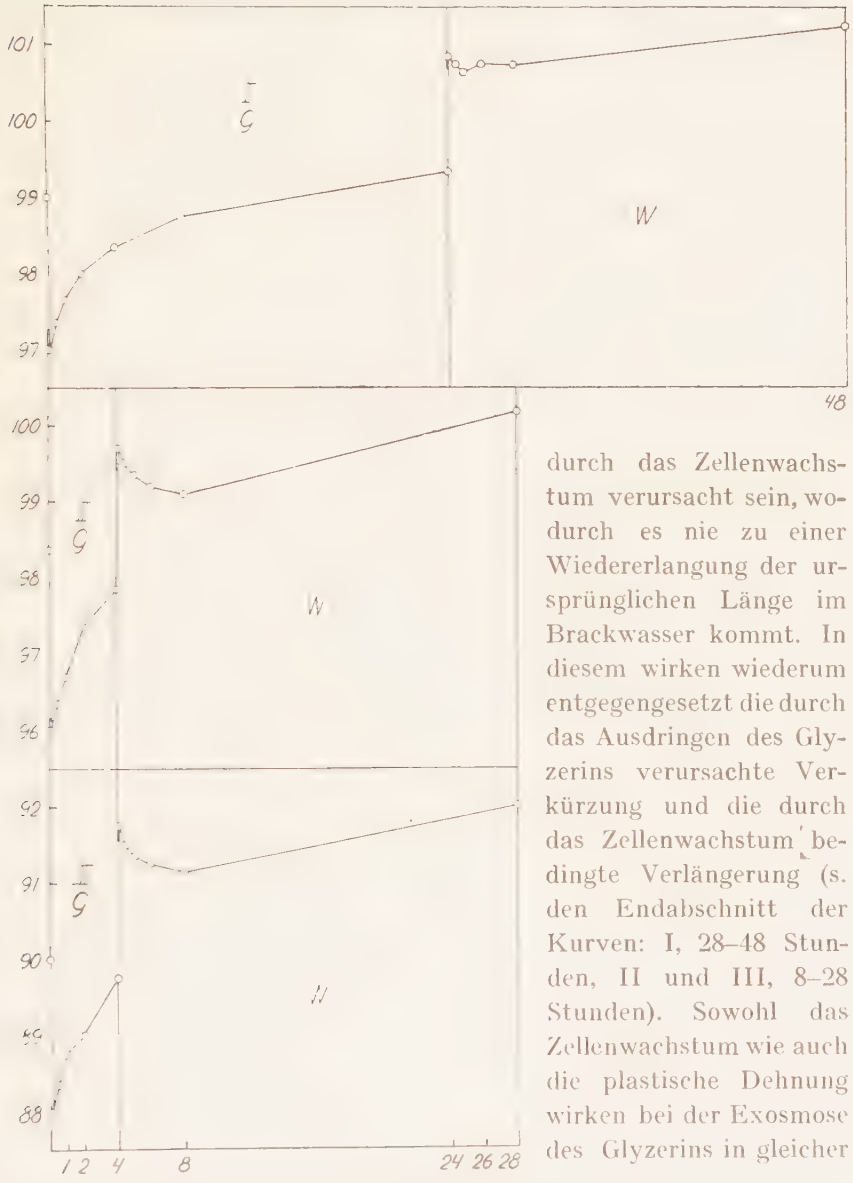


Abb. 9. Längenveränderungen gemessener Thallusabschnitte von *Ceramium* in 0.5-mol. Glyzerinlösung (*G*) und Wasser (*W*). — Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Länge des Thallusabschnittes in Mikrometerskalenteilen.

durch das Zellenwachstum verursacht sein, wodurch es nie zu einer Wiedererlangung der ursprünglichen Länge im Brackwasser kommt. In diesem wirken wiederum entgegengesetzt die durch das Ausdringen des Glyzerins verursachte Verkürzung und die durch das Zellenwachstum bedingte Verlängerung (s. den Endabschnitt der Kurven: I, 28–48 Stunden, II und III, 8–28 Stunden). Sowohl das Zellenwachstum wie auch die plastische Dehnung wirken bei der Exosmose des Glyzerins in gleicher

Richtung, d. h. als permeierten geringere Mengen aus den Zellen heraus, als tatsächlich der Fall ist.

Ähnliche Resultate haben auch meine Versuche mit Erythrit, Mannit und Glukose ergeben. Die ausgeführten Messungen lassen erkennen, dass die Thallusabschnitte nach ihrer Verlängerung im Brackwasser eine noch geringere Verkürzung erleiden als im entsprechenden (24stündigen) Glyzerinversuch und dass ihre Verkürzung in der Saccharoselösung am Ende des Versuches auch relativ grösser ist als am Anfang desselben.

Die Permeabilitätseigenschaften. — Obwohl eine eingehendere Klarlegung des Permeationsverlaufes der verschiedenen Stoffe an Hand der erzielten Versuchsresultate schwierig, in einigen Fällen geradezu unmöglich ist, habe ich auf der Basis des früher Angeführten angenommen, dass die Permeation der untersuchten Verbindungen auch bei *Ceramium* dem Fickschen Diffusionsgesetz folgt.

Um auf Grund der dargelegten Messungsergebnisse die ω-Werte zu errechnen, muss klargelegt werden, in wie starken Saccharoselösungen die Verkürzung der Thallusabschnitte die gleiche ist wie in der 0.5-mol. Lösung des untersuchten Stoffes zu einem bestimmten Zeitpunkt. Zu diesem Zweck habe ich zuerst die Verkürzung in 0.5-mol. Saccharoselösung und hiernach die Verlängerung in 0.45-, 0.40-, 0.35-, 0.30-, 0.25-, 0.20-, 0.15- und 0.10-mol. Rohrzuckerlösungen gemessen. Die Messungsergebnisse sind in Tab. 11 zusammengestellt.

Tabelle 11. Relative Verkürzung der Thallusabschnitte von *Ceramium* in verschieden starken Rohrzuckerlösungen, ausgedrückt in Prozenten von der in einer 0.5-mol. Rohrzuckerlösung bewirkten Verkürzung.

0.5 GM	0.45 GM	0.4 GM	0.35 GM	0.3 GM	0.25 GM	0.2 GM	0.15 GM	0.1 GM
100	72	50	41	28	16	9	4	0

An Hand der erhaltenen Prozentwerte sowie der auf S. 68 genannten Versuchsdaten habe ich durch graphische Interpolation berechnet, bei welcher Saccharosekonzentration (S) die Thallusabschnitte die gleiche Verkürzung erfahren wie in der 0.5-mol. Lösung der untersuchten Substanzen. Es ergibt sich dann: $\omega = \frac{S}{0.5}$.

In Tab. 12 sind die berechneten Permeationskonstanten für alle diejenigen Verbindungen angegeben, deren einem bestimmten Zeitpunkt entsprechender ω-Wert sich mit etwaiger Sicherheit hat bestimmen lassen. Bei der Berechnung des gegenseitigen Verhältnisses von Zellvolumen und Zelloberfläche habe ich ausschliesslich die durchschnittlich 0.0108 cm dicken Internodienzellen berücksichtigt. In diesem Falle ist $P = P' : 370$.

Tabelle 12. Permeabilitätsreihe für *Ceramium* mit derjenigen für *Chara* (nach Collander & Bärlund) verglichen. Die mit * bezeichneten Werte sind als unsicher (und zwar wahrscheinlich als allzu gross) zu betrachten.

Ceramium			*Chara*			Für Glyzerin = 1	
ω	t (Min.)	P′	P · 10⁴	P · 10⁴	Substanz	*Ceramium*	*Chara*
0.41	1.5	36	970	1300	Propionamid	130	180
0.58	2	16	430	530	Azetamid	59	72
0.58	3	11	300	430	Äthylenglykol	41	58
0.68	16	1.4	38	68	Methylharnstoff	5.2	9.2
0.8	11	1.2	32	40	Harnstoff	4.4	5.4
0.8	35	0.38*	10*	26	Urotropin	1.4*	3.5
0.8	40	0.33*	8.8*	14	Malonamid	1.2*	0.19
0.8	50	0.27	7.3	7.4	Glyzerin	1	1
0.89	280	0.025	0.68	0.46	Erythrit	0.093	0.062
0.89	425	0.016*	0.43*	< 0.3	Mannit	0.059*	< 0.04
0.89	550	0.013*	0.35*	< 0.3	Glukose	0.048*	< 0.04

Beim Vergleich der Permeabilitätsreihen für *Chara* und *Ceramium* kann keine grössere Rücksicht auf die Permeationskonstanten der sehr langsam permeierenden Verbindungen (Mannit, Glukose) und insbesondere des Urotropins sowie des Malonamids genommen werden, da ihre Bestimmung am ungenauesten gewesen ist. Schon ein Blick auf Tab. 12 zeigt, dass die Permeabilitätsreihen beider Objekte — einerlei ob man die absoluten oder die auf das Glyzerin bezogenen Permeationskonstanten ins Auge fasst — eine überraschend grosse Übereinstimmung aufweisen, und zwar in dem Masse, dass das Malonamid, das sich in seiner Wirkung als unerwartet schädlich erwies, die einzige auffällige Ausnahme bildet. So scheint das Glyzerin mit der

gleichen Schnelligkeit und die rascher als das Glyzerin permeierenden Verbindungen etwas langsamer in die Zellen von *Ceramium* als in diejenigen von *Chara* zu permeieren.

Auf Grund des Obigen ist es wahrscheinlich, dass die Plasmahäute von *Ceramium* und *Chara* untereinander sehr ähnlich sind.

VII. JUNGE WURZELZELLEN VON LEPIDIUM SATIVUM.

Allgemeines. — Die Permeationsverhältnisse embryonaler Zellen sind bisher noch nicht eingehender studiert worden. Die wenigen diesbezüglichen Angaben, die in der Literatur überhaupt vorhanden sind (Lundegardh 1911; Tröndle 1918), scheinen darauf hinzudeuten, dass die embryonalen Zellen in betreff ihrer Durchlässigkeit von den erwachsenen Zellen beträchlich abweichen. Eine Erweiterung unserer Kenntnisse in diesem Punkt schien also motiviert.

Zu meinen Versuchen benutzte ich in feuchter Luft aufgezogene Keimwurzeln von *Lepidium sativum*. Die Saatkästchen mit den an feucht gehaltenem Löschpapier haftenden Sämlingen befanden sich in diffusem Licht in meinem Arbeitszimmer, dessen Temperatur bei 20.0°–22.0° C variierte. Die Versuche wurden sowohl mit 1.0–1.5 mm als mit 6–8 mm langen Keimwurzeln, entsprechend einem Alter von 12–14 bzw. 24 Stunden, ausgeführt. Die mikroskopische Prüfung eines medianen Längsschnitts zeigte, dass eine 5.5 mm lange Keimwurzel an der Spitze zu $^1/_5$ ihrer Länge aus sehr kleinen Zellen nebst der 0.1 mm messenden Wurzelhaube bestand.

Versuchsmethodik. — Vorversuche mit gewässerten Keimwurzeln zeigten, dass 6–8 mm lange Keimwurzeln sich in einer 0.3-mol. Rohrzuckerlösung regelmässig um 7–8 %, 1.0–1.5 mm lange Wurzeln um 10–12 % ihrer totalen Länge verkürzten. Ferner zwar zu beobachten, dass die Wurzel sich nach ihrer Verlängerung im Wasser, in die Saccharoselösung versetzt, erneut und zwar im gleichen Masse wie vor verkürzte, und schliesslich, dass diese Manipulation bei ihrer Wiederholung keinen Einfluss auf die elastischen Eigenschaften der Zellwände zu haben schien, ebensowenig wie auch ihre Dehnbarkeit — im allgemeinen — durch die anderen benutzten Substanzen (ausgenommen das Antipyrin und in gewissen Fällen das Urotropin) beeinflusst wurde (vgl. die Resultate der längeren Versuche). Unter diesen Umständen konnte ich mich für die u. a. von Lundegårdh (1911) angewandte Gewebespannungsmethode entscheiden. Ich habe mich dieser Me-

thode bedient, weil sie sich als sehr bequem erwies, wenn sie auch nicht imstande ist, genaue quantitative Werte zu liefern.

Bei den Versuchen verfuhr ich folgendermassen (vgl. LUNDEGÅRDH l. c., S. 21):

Um Wirkungen des Wundreizes zu vermeiden und auch um die Wurzeln leichter befestigen zu können, bediente ich mich bei den Versuchen ganzer Keimpflanzen, die mit ihren noch in der Samenschale steckenden Keimblättern mit geschmolzenem Kakaowachs mitten an der Wand eines aus geschliffenen Glasplatten hergestellten rechteckigen Glasgefässes so befestigt wurden, dass vom apikalen Wurzelende ein 6–8 bzw. — in anderen Versuchen — ein 1.0–1.5 mm langer Teil frei blieb. Das Glasgefäss, das, um jedesmal ein restloses Entfernen der Lösungen zu ermöglichen, inwendig mit einer Mischung von Harz und Wachs bekleidet war, wurde dann zitterfrei auf dem Kreuztisch des Mikroskops senkrecht aufmontiert, so dass die Keimwurzeln sich während der ganzen Versuchsdauer in ihrer natürlichen Lage befanden.

Nun durften die Wurzeln 15 Minuten in Leitungswasser verweilen. Nach der Wässerung bestimmte ich die Verkürzung der Keimwurzel in einer 0.3-mol. Saccharoselösung durch Verfolgung der Bewegungen der freien Wurzelspitze. In der Rohrzuckerlösung blieb die Wurzel so lange, als noch eine Verkürzung zu bemerken war. Während dieser Zeit (so auch im Falle der anderen Lösungen) wurde die Lösung 2–3mal erneuert. Nun wurde die Rohrzuckerlösung mit Wasser vertauscht, in welchem die Wurzeln doppelt so lange wie vorhin verweilen durften, damit der Zucker sicher Zeit hätte, aus der Wurzel hinauszudiffundieren. Hiernach kam die Reihe an die eigentliche Versuchslösung in 0.3-mol. Konzentration. In dieser wurde nun die Verkürzung der Keimwurzeln genau verfolgt. — Die Versuche wurden auch in entgegengesetzter Reihenfolge, von der Versuchslösung beginnend und bei der Saccharoselösung endigend, ausgeführt.

Ausser obigen habe ich auch längere Versuche ausgeführt. In diesen durfte die Keimwurzel nach der Wässerung so lange in der 0.3-mol. Versuchslösung verweilen, dass sie nach ihrer Verkürzung sich noch mindestens während der Zwischenzeit zweier Beobachtungen wieder verlängerte, bevor die Lösung mit der nächsten, ebenfalls 0.3-mol. Versuchslösung vertauscht wurde, in welcher die Keimwurzel nun die gleiche Zeit wie in der ersteren blieb. Die verkürzende Wirkung beider Lösungen wurde 2mal untersucht. Die Stoffpaare wählte ich so, dass die verkürzende Wirkung der gewählten Stoffe jedesmal tunlichst gleich war.

Nach dem Vorbild von LUNDEGARDH (l. c.) führte ich auch einige Versuche in der Weise aus, dass ich mit Hilfe eines feinen Pinsels die etwa 2 mm messende Keimwurzel etwa 1 mm von ihrer Spitze mit Tusche anzeichnete und sie dann in der gewöhnlichen Weise an der Glaswand des Versuchsgefässes befestigte. Hiernach erfolgte die Ausführung des Versuches wie vorher, nur mit dem Unterschied, dass ich nun die Längenveränderung des so begrenzten Wurzelabschnitts verfolgte. Die Resultate stehen in Übereinstimmung mit denjenigen der vorher an den 1.0–1.5 mm langen Wurzeln ausgeführten Versuche.

In sämtlichen Versuchen erfolgten die Längenmessungen nach 30 Sekunden, 1, 2, 4, 8, 16 und 32 Minuten und mit der Genauigkeit eines Skalenteilviertels (Objektiv 3, Mikrometerokular 2; 1 Skalenteil = 0.018 mm). Dickenmessungen wurden nicht vorgenommen, weil die Dickenänderungen sich wegen ihrer Kleinheit der Wahrnehmung entzogen. Die benutzten Lösungen wurden im allgemeinen volumnormal 0.3-mol. hergestellt, mit Ausnahme jedoch des Trimethylzitrats, dessen Konzentration wie auch diejenigen der parallel benutzten Versuchslösungen 0.25 GM betrug. Der Konzentrationswert 0.3 GM wurde deshalb gewählt, weil ich dabei sicher wusste, dass ich mit unplasmolysierten Zellen arbeitete. Vorversuche zeigten nämlich, dass noch bei 0.4 GM in einigen Zellen Plasmolyse eintrat. Als Lösungsmittel benutzte ich gewöhnliches Leitungswasser, in welchem sich die Keimwurzeln recht wohl zu fühlen schienen.

Um die mit den verschiedenen Versuchslösungen erhaltenen Ergebnisse direkt miteinander vergleichen zu können, untersuchte ich stets die Verkürzung derselben Keimwurzel in zwei verschiedenen Lösungen, die eine gewöhnlich Saccharose. Täglich fanden mehrere solche Versuchspaare statt, und am folgenden Tage wurden einige noch wiederholt. Für die Versuche stellte ich die *Lepidium*-Samen in Zeitabständen von einigen Stunden in mehrere Saatkästchen zum Keimen, so dass mir jederzeit annähernd gleich alte und gleich lange Keimwurzeln zur Verfügung standen.

Fehlerquellen. — Bevor ich nun über die erzielten Versuchsresultate berichte und an Hand derselben die Permeation der untersuchten Verbindungen in die Keimwurzelzellen von *Lepidium* klarzulegen versuche, mögen die damit verknüpften unvermeidlichen Fehlerquellen kurz erörtert werden.

Eine für die Gewebespannungsmethode spezifische Fehlerquelle ist das während des Versuches sich fortsetzende Wachstum des Zellgewebes. Diese Fehlerquelle dürfte sich in allen Versuchen geltend machen. Der hierdurch entstandene Fehler ist jedoch im allgemeinen, wegen der kurzen Versuchsdauer, gering. Auf das Gleiche deuten auch die in Leitungswasser ausgeführten Wachstumsversuche, in welchen 6–8 mm lange Wurzeln nach der Wässerung in 4 Minuten um $^1/_4$–$1\,^1/_2$, in 8 Minuten um 1 3 und in 16 Minuten um $3\,^1/_4$–$4\,^1/_4$ Mikrometerskalenteile, entsprechend 0.05–0.45 %, 0.25 0.90 % und 0.75–1.30 % der totalen Wurzellänge, an Länge zunahmen. Dieser Fehler ist relativ kleiner bei solchen Verbindungen, die eine grössere Verkürzung der Wurzel zu bewirken imstande sind, angenommen, dass die untersuchten Stoffe nicht wachstumsfördernd wirken.

Kein einziger der untersuchten Stoffe hatte schon bei der ersten Beobachtung (also nach 30 Sekunden) seine maximale wasserentzie-

hende Wirkung entfaltet, sondern es war hierzu stets eine längere, je nach der in Frage stehenden Verbindung verschiedene Zeit erforderlich, abhängig nicht nur von der begrenzten Wasserpermeabilität des Protoplasmas und der diffusionshemmenden Einwirkung der Zellwand, sondern in diesem Falle, wo es sich ja um ein Zellgewebe handelt, auch vom langsamen Eindringen der untersuchten Verbindungen in das Innere der Wurzeln. An Hand der vorliegenden Beobachtungen ist jedoch eine genaue Analyse des Einflusses der obigen Fehlerquellen auf die Versuchsresultate schwer, wenn nicht geradezu unmöglich.

Es ist recht wahrscheinlich, dass sich während der ganzen Zeit, in deren Verlauf Längenveränderungen wahrgenommen werden, die nicht wachstumsbedingt sind, die Zellen der verschiedenen Zellschichten in einem gegenseitigen Spannungszustand befinden. Im Anfang des Versuches zeigen die äussersten Zellschichten das Bestreben zu einer Verkürzung, während die inneren Lagen noch in ihrem ursprünglichen Zustand verharren. Hat nun der osmotisch wirksame Stoff auch das Innere der Wurzel erreicht, so tritt hier Verkürzung ein, gleichzeitig aber — oder auch schon früher — sind die äussersten Zellschichten bestrebt, sich wieder auszudehnen, da der Stoff dort schon in die Zellen eingedrungen ist. In solchen Versuchen gibt uns leider die Verkürzung der Wurzel nur von der Resultantwirkung der verschiedenen Kräfte (auch des Wachstums) ein Bild. Liessen sich die verschiedenen Zellagen einzeln untersuchen, so wäre in ihnen die Verkürzung naturgemäss kräftiger, als sie nun an der intakten Wurzel wahrgenommen wird.

Hier wie auch in den vorigen Versuchen besteht die Möglichkeit, dass der osmotische Effekt der in die Zellen eingedrungenen Stoffe dort verändert wird (vgl. LUNDEGÅRDH l. c., S. 56–), ferner auch, dass die Zellen beschädigt werden. Obwohl hierüber keine näheren Beobachtungen vorliegen, deuten doch einige Tatsachen darauf hin, dass die meisten Versuche mit völlig normalen Zellen ausgeführt worden sind. So haben sich die Wurzeln in den Versuchslösungen relativ gleich stark verkürzt, einerlei ob die Verkürzung zuerst in der Saccharoselösung und erst später in der eigentlichen Versuchslösung erfolgte, oder umgekehrt. Auch aus den längeren Versuchen, in denen der Einfluss zweier nacheinander wirkender Stoffe studiert wurde, geht hervor, dass die Verkürzung und Wiederausdehnung der Wurzeln

nichts Abweichendes an den Tag legt, was etwa auf eine pathologische Veränderung der Permeabilität deuten könnte. Nur in den Antipyrin- und Urotropinversuchen (seltener) kann man bei längerer Versuchsdauer eine mehr als gewöhnlich rasche Verlängerung der Wurzeln feststellen. Eine Nachprüfung des Wachstums in Leitungswasser ergab jedoch, dass die Objekte unter der Einwirkung dieser Stoffe nicht in grösserem Masse gelitten haben, denn das tägliche Wachstum der Wurzeln war nach den Versuchen auch in diesem Falle normal. Auch die im Anschluss an die übrigen Versuche im Leitungswasser angestellten Nachprüfungen haben das gleiche Resultat geliefert.

Aus Obigem dürfte hervorgehen, dass sich an Hand der erzielten Versuchsresultate keine genauen Werte für die Permeationsgeschwindigkeit der untersuchten Verbindungen in die Zellen der Keimwurzeln von *Lepidium* ableiten lassen, sondern sie geben uns lediglich nur ein allgemeines Bild von den Permeabilitätseigenschaften dieser Zellen. Ich begnüge mich deshalb mit einer Vorführung der Versuchsergebnisse in stark verkürzter Form.

Die Versuchsergebnisse. — Tab. 13 bringt eine Zusammenstellung der arithmetischen Mittelwerte der relativen maximalen Verkürzungs-

Tabelle 13. Relative maximale Verkürzungen, ausgedrückt in Prozenten von der durch eine äquimolare Rohrzuckerlösung bewirkten Verkürzung, sowie die maximalen osmotischen Koeffizienten (o) für die *Lepidium*-Wurzeln.

Substanz	Verkürzung, %		o
	6–8 mm lange Wurzeln	1.0–1.5 mm lange Wurzeln	6–8 mm lange Wurzeln
Antipyrin	3.1	1.1	0.220
Trimethylzitrat	5	1.9	0.300
Propionamid	9.2	1.9	0.435
Äthylenglykol	12.5	3.1	0.470
Azetamid	14.6	7.7	0.550
Methylharnstoff	27.1	13.8	0.700
Harnstoff	41	16	0.785
Glyzerin	42	25.5	0.800
Urotropin	66.5	43.1	0.900
Malonamid	85.1	61.3	0.950
Erythrit	89	85.3	0.965
Saccharose	100	100	1.0

prozente. Jeder Mittelwert gründet sich auf die Resultate von 6–8 Versuchen. Die Prozentwerte ebenso wie die sich auf sie gründenden osmotischen Koeffizienten sind in derselben Weise wie vorher bei *Ceramium* berechnet worden. Zu diesem Zweck bestimmte ich an 6–8 mm langen Wurzeln die Verkürzung in 0.30-, 0.25-, 0.20-, 0.15-, 0.10- und 0.05-mol. Rohrzuckerlösungen entweder wie oben oder in der gleichen Weise wie bei *Ceramium*, doch so, dass ich von der schwächsten Lösung (0.05 GM) ausging, in der Hoffnung, dass sich dann das Wachstum bei den Längenveränderungen weniger bemerkbar machen würde. Die Mittelwerte der Ergebnisse finden sich Tab. 14.

Tabelle 14. Relative Verkürzung der *Lepidium*-Wurzeln in verschieden starken Rohrzuckerlösungen, ausgedrückt in Prozenten von der in einer 0.3-mol. Rohrzuckerlösung bewirkten Verkürzung.

0.3 GM	0.25 GM	0.2 GM	0.15 GM	0.1 GM	0.05 GM
100	48.4	23.1	10.9	6.2	2.3

Es sei an dieser Stelle einiges über die Versuche in verschieden starken Rohrzuckerlösungen erwähnt. Ich konnte feststellen, dass in der 0.05-mol. Lösung die Verkürzung der Wurzel nur während der ersten 1–2 Minuten andauerte, worauf nach 4 Minuten regelmässig eine Wiederausdehnung erfolgte. In der 0.1-mol. Lösung waren die entsprechenden Zeiten 2–4 bzw. 8 Minuten, in der 0.15-mol. 4 bzw. 8, in der 0.2-mol. 4–8 bzw. 16, in der 0.25-mol. 8–16 bzw. 24 und in der 0.3-mol. Lösung schliesslich 16–24 bzw. 32 Minuten. Es scheint, als wirke vor allem gerade das Wachstum störend auf die Längenveränderungen der Wurzeln ein, so dass die Werte der Tabelle 14 nicht imstande sind, uns ein genaues Bild von der verkürzenden Wirkung der verschieden starken Rohrzuckerlösungen zu geben.[1]

Die Prozentreihen der Tabelle 13 sind für beiderlei Wurzeln im grossen und ganzen übereinstimmend. Bei näherer Betrachtung zeigt es sich jedoch, dass die Verkürzung der jungen Wurzeln (auf die in der Rohrzuckerlösung stattfindende Verkürzung bezogen) relativ geringer ist als die der älteren Wurzeln. Dies könnte davon herrühren, dass die Zellen der jüngeren Wurzeln für die untersuchten Verbindungen durchlässiger wären als die der älteren Wurzeln (vgl. Marklund 1936, S. 11). Die Unterschiede können aber auch wachs-

tumsbedingt sein, wobei die Beeinflussung der Längenveränderungen durch das Wachstum in einander entsprechenden Versuchen bei den jüngeren Wurzeln relativ kräftiger wäre als bei den älteren. Oder auch können sie von den eventuell verschiedenen Permeabilitätseigenschaften der Wurzelhaube herrühren, die sich bei jungen Wurzeln relativ stärker geltend machen würden als bei den älteren. Weiter ist zu

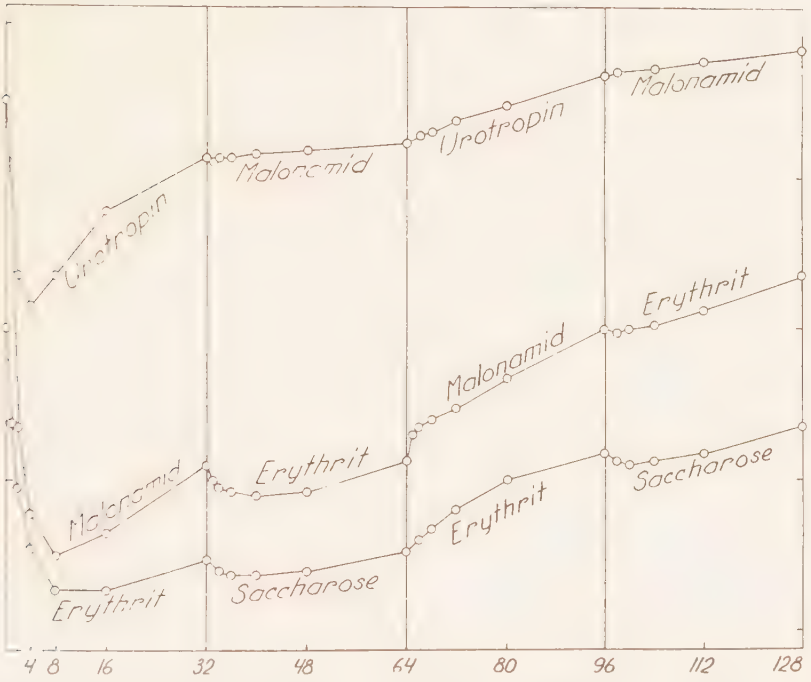


Abb. 10. Einwirkung 0,3-mol. Lösungen verschiedener Verbindungen auf die Länge der Keimwurzeln von *Lepidium*. — Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometerskalenteile (Position der Wurzelspitze auf der Mikrometerskala).

konstatieren, dass die älteren Wurzeln sich im Harnstoff ebenso stark verkürzen wie im Glyzerin, junge Wurzeln aber in jenem deutlich weniger als in diesem. Zur Klärung der Sachlage führte ich mit den gleichen Lösungen auch solche Versuche aus, in denen ich nur die Längenveränderungen der Wurzelbasis verfolgte (1–2 mm von der Befestigungsstelle und ca. 5 mm von der Spitze entfernt ein Tuschezeichen). In beiden Lösungen verkürzte sich die Wurzelbasis relativ

ebenso viel, im Harnstoff vielleicht unbedeutend mehr als im Glyzerin. Gleiches zeigten auch längere Versuche, in denen abwechselnd die Wirkung beider obiger Stoffe an ein und derselben Wurzel untersucht wurde. Dies würde bedeuten, dass die jüngeren Zellen für Harnstoff permeabler sind als die älteren.

Die Ergebnisse der längeren Versuche, in denen die Verkürzung und teilweise auch die Wiederausdehnung 6–8 mm langer Keim-

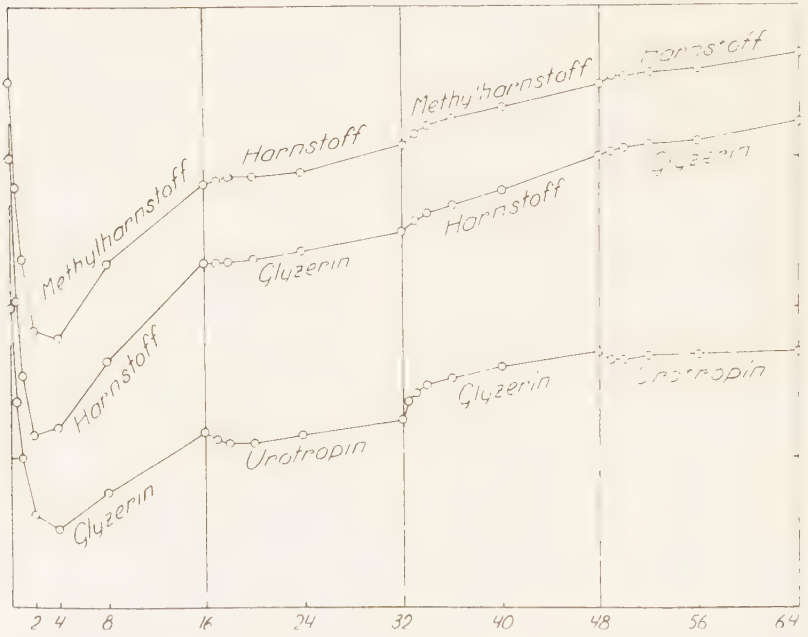


Abb. 11. Einwirkung 0.3-mol. Lösungen verschiedener Verbindungen auf die Länge der Keimwurzeln von *Lepidium*. — Abszisse: Zeit in Minuten, Ordinate: Mikrometerskalenteile (Position der Wurzelspitze auf der Mikrometerskala).

wurzeln in den Lösungen je zweier Stoffe paarweise untersucht wurden, sind in den Abbildungen 10–12 graphisch dargestellt. Nach der Wässerung stellte ich die Wurzelspitze stets genau auf den Skalengrad 70.0 der Mikrometerskala ein. Der Abstand der Zeichen auf der Ordinate entspricht 10 Skalenteilen. Der Deutlichkeit halber habe ich die Kurven übereinander getrennt gezeichnet.

In diesen Versuchen wählte ich paarweise diejenigen Stoffe, die

in der Reihe der Tabelle 13 einander unmittelbar benachbart gestanden hatten, so z. B. Saccharose — Erythrit, Erythrit — Malonamid, usf. Hierbei liess sich die Stichhaltigkeit der in der genannten Tabelle angeführten Reihenfolge der Stoffe bestätigen. Wie der Verlauf der Kurven zeigt, verlängert sich die Wurzel in der Lösung derjenigen Verbindung, die einen niedrigeren Prozentwert als ihr Nachbar auf-

Abb. 12. Einwirkung verschiedener Lösungen auf die Länge der Keimwurzeln von *Lepidium* (Konzentration der Lösungen in den zwei obersten Versuchsreihen 0.25 GM, in den drei untersten 0.3 GM). — Abszisse: Zeit in Minuten. Ordinate: Mikrometerskalenteile.

weist, gleich nach dem Austausch der Lösungen, und umgekehrt, was anzeigt, dass uns durch die Reihen der Tabelle 13 ein qualitativ richtiges Bild von den Permeabilitätseigenschaften der *Lepidium*-Wurzeln geboten wird.

Die Permeabilitätseigenschaften. – Da die erhaltenen Versuchsresultate die Aufstellung von Permeationskonstanten für die Keimwurzeln von *Lepidium* nicht gestatten, ist man beim Vergleich der

Permeabilitätsreihen für *Chara* und *Lepidium* genötigt, sich lediglich mit einer Betrachtung der Reihenfolge der einzelnen Verbindungen, wie sie aus Tabelle 13 hervorgeht, zu begnügen. Diese Betrachtung führt unwiderleglich zu der Feststellung, dass die Permeabilitätseigenschaften der Keimwurzelzellen von *Lepidium* mit denjenigen der *Chara*-Zellen im grossen und ganzen übereinstimmen.

Struggers (1935, S. 92) Angabe, die Epidermiszellen der *Lepidium*-Wurzeln seien »für den Harnstoff ungewöhnlich hoch permeabel», veranlasste mich zu einer Bestimmung der plasmolysierenden Grenzkonzentration des Rohrzuckers und des Harnstoffs für Epidermiszellen der Wurzelspitze (unterhalb der Wurzelhaare) einer 6–8 mm langen *Lepidium*-Keimwurzel. Als plasmolysierende Grenzkonzentration ergab sich beim Rohrzucker 0.40–0.45 GM und beim Harnstoff 0.55 GM und als mittlerer maximaler osmotischer Koeffizient für den Harnstoff 0.775. Dieser Wert zeigt, dass der Harnstoff keineswegs mit abweichender Geschwindigkeit in die Wurzelepidermiszellen von *Lepidium* hineinpermeiert. Zu einem ähnlichen Ergebnis gelangt man übrigens bereits an Hand der Beobachtungen Struggers unter der Annahme, dass der von ihm benutzte Rohrzuckerwert der gleiche ist wie oben — hierfür spricht die Beobachtung in einer 0.6-mol. Traubenzuckerlösung —, da Strugger als Grenzkonzentration für den Harnstoff 0.6 GM erhielt.

VIII. EMBRYONALE ZELLEN DER WURZELSPITZE VON LUPINUS ALBUS.

Allgemeines. — Die Permeabilität der embryonalen Wurzelzellen von *Lupinus albus* ist früher bereits von TRÖNDLE (1918) untersucht worden. TRÖNDLE gibt bei ihnen eine ganz ungewöhnlich grosse Durchlässigkeit für Elektrolyte an. Gerade dieser Umstand regte mich nun zum Studium des Verhaltens der embryonalen Wurzelzellen dieses Versuchsobjektes auch gegenüber einigen Anelektrolyten an.

Die für die Versuche von ALBRECHT HOCH in Berlin-Neukölln bezogenen *Lupinus*-Samen durften zuerst 24 Stunden in Leitungswasser aufquellen. Sodann wurde die Samenschale entfernt und die Samen in feuchte Sägespäne eingelegt, wo sie bei 20.0°–22.0° C keimten. Nach zwei Tagen hatten sie bereits eine 2–3 cm lange Hauptwurzel getrieben.

Versuchsmethodik. — Vor der Herstellung der Schnitte wurde mit Hilfe der Saugpumpe die Luft aus den Wurzeln, soweit es möglich war, entfernt. Hiernach wurde von der äussersten Wurzelspitze ein 2 mm langes Stück abgenommen und aus der folgenden 2–3 mm-Zone Querschnitte in der Weise wie bei TRÖNDLE (l. c., S. 10) verfertigt. Um längere Zellreihen studieren zu können, stellte ich auch einige Längsschnitte sowohl von intakten Wurzeln als von solchen mit abgenommener Spitze her. Aus den Schnitten wurde die Luft noch besonders entfernt.

Die Versuche führte ich — wie TRÖNDLE — nach der üblichen grenzplasmolytischen Methode aus. Stammlösungen und Lösungsreihen wurden wie früher hergestellt. In diesen Versuchen bediente ich mich grösserer Konzentrationsstufen als sonst (0.25 GM und 0.5 GM). Als Lösungsmittel diente gewöhnliches Leitungswasser.

Die Versuchsergebnisse. — Zuerst studierte ich das Verhalten der Wurzelzellen von *Lupinus* gegenüber Kaliumnitrat. Hierbei stellte ich fest, dass sich die Zellen der Querschnitte sowohl in 2.0- als in 1.5-mol.

Lösungen allgemein plasmolysierten und dass in der letzteren die Deplasmolyse erst nach 2 Stunden vollständig zu sein begann. In der 1.0-mol. Lösung schien das Mass der Plasmolyse zu variieren: in manchen Schnitten trat nur in einigen Zellen Plasmolyse ein, in anderen wiederum war der Plasmolysegrad über 50 %. Die Deplasmolyse schien nach 15 Minuten vollständig zu sein. Lösungen zu 0.75 GM und 0.5 GM schienen keine Plasmolyse mehr hervorrufen zu können. In den Längsschnitten sah man lange Zellreihen, die völlig unplasmolysiert waren, während ganz daneben sämtliche Zellen der benachbarten Zellreihe oder auch nur diejenigen ihres basalen oder apikalen Abschnittes Plasmolyse aufweisen konnten. Ferner liess sich feststellen, dass die Zellen besonders in den 1.5- und 2.0-mol. Lösungen leicht Schaden nahmen und abzusterben schienen: der Zellinhalt nahm eine körnige Konsistenz an, zuweilen schwoll auch der Zellkern (vgl. Lundegårdh 1911, S. 51), und die Plasmolyse wurde auch im Wasser nicht rückgängig, obgleich sich die Zellen nur 5 Minuten lang in der 1.5-mol. Lösung befunden hatten.

In den Versuchen mit Anelektrolyten trat in 1.0-mol. Rohrzucker-, Traubenzucker- und Malonamidlösungen sowohl an Quer- wie an Längsschnitten allgemeine Plasmolyse ein. Auffallenderweise ging aber die Plasmolyse nicht zurück, wenn die Schnitte nach 5 Minuten in Wasser übertragen wurden. Die Zellen waren also offenbar abgestorben. Gleiches traf auch für die Plasmolyse in den 0.5-mol. Lösungen der obigen Stoffe zu. In der Rohrzuckerlösung überstieg der Plasmolysegrad 50 %, die Plasmolyse war aber recht undeutlich. In der Malonamidlösung war der Plasmolysegrad entschieden unter 50 % und die Plasmolyse schwer erkennbar. Eigentümlich für die in den schwächeren Lösungen (0.5 GM und 0.75 GM) auftretenden Plasmolyse war noch, dass sich in einem sonst völlig homogenen Zellgewebe Zellgruppen fanden, die Plasmolyse aufwiesen, während die Nachbarzellen völlig unplasmolysiert waren. — Einige wenige Versuche wurden auch mit Glyzerin und Harnstoff ausgeführt. In 2.0-mol. Lösungen dieser Stoffe schien Plasmolyse wohl einzutreten, sie war aber in einer ganz absonderlichen Weise undeutlich, so dass sich der Zeitpunkt der Deplasmolyse, falls eine solche überhaupt eintrat, äusserst schwer bestimmen liess. In 1.75-mol. Lösungen war die Plasmolyse womöglich noch undeutlicher und in 1.5-mol. Lösungen wurde sie überhaupt nicht wahrgenommen. In Schnitten, die

längere Zeit (2 Stunden) in Leitungswasser gelegen hatten, plasmolysierten sich die Zellen in 1.0-mol. Rohrzucker-, Traubenzucker- oder Malonamidlösungen noch unregelmässiger als vorhin oder überhaupt nicht. Es sei bemerkt, dass ich bei der Ausführung dieser Versuche die Bakterienversuche bereits hinter mir hatte und also an die Unterscheidung undeutlicher Plasmolyse wohl gewöhnt war. Dennoch führten meine langwierigen Bemühungen an *Lupinus* zu keinen klaren Ergebnissen.

Aus der obigen kurzen Darstellung dürfte hervorgehen, dass ich bei meinen Versuchen mit Wurzelzellen von *Lupinus albus* bei weitem nicht zu derart klaren Ergebnissen gekommen bin wie Tröndle (1918, S. 41 und 122). Im Gegenteil führten sie mich zu der Auffassung, dass sich diese Zellen nicht als Versuchsobjekte für das plasmolytische Verfahren eignen. Dies dürfte zum Teil davon herrühren, dass das Plasma sich in den Zellen der Wurzelspitze im allgemeinen sehr schwer von der Zellwand abzulösen scheint und dass die Plasmolyse in den wachsenden Zellen infolge der innigen Beziehung zwischen Zellwand und Plasmahaut (vgl. Lundegårdh 1911, S. 43 -) Schädigungen hervorruft. Ausserdem scheinen Elektrolyte, auch KNO_3, in höheren Konzentrationen in gleicher Weise schädigend auf die Wurzelzellen von *Lupinus* einzuwirken, wie es Lundegårdh bei *Vicia faba* festgestellt hat. Wie Tröndle zu seinen anscheinend so exakten Ergebnissen gekommen ist, ist mir unbegreiflich.

IX. VERGLEICH MIT ANDEREN ZELLEN.

Zwecks einer vergleichenden Übersicht über die spezifischen Permeabilitätseigenschaften der bisher untersuchten pflanzlichen Protoplasten habe ich die in Abb. 13 wiedergegebene graphische Darstellung nach der zuerst von HOFMEISTER (1935), dann von MARKLUND (1936) und WAHRY (1936) benutzten Methode entworfen. Die Objekte sind in ihr nach steigendem *P*-Wert des Glyzerins geordnet. Der Deutlichkeit halber sowie zur rascheren Orientierung habe ich die Kurven der Alkohole einerseits und die der Aminogruppen enthaltenden Verbindungen andererseits durch verschiedene Zeichen kenntlich gemacht.

Als Vergleichsbasis habe ich die Permeationsgeschwindigkeiten folgender 7 häufiger untersuchten Verbindungen gewählt: Azetamid (*I*), Äthylenglykol (*II*), Methylharnstoff (*III*), Harnstoff (*IV*), Glyzerin (*V*), Malonamid (*VI*) und Erythrit (*VII*), weil diese sich für die meisten pflanzlichen Zellen am wenigsten gefährlich erwiesen und ihr Permeationsvermögen sich in den meisten Fällen am genauesten hat bestimmen lassen.

Abb. 13 enthält die Permeabilitätsreihen aller solcher pflanzlichen Objekte (mit Ausnahme eines einzigen), deren Protoplasmapermeabilität für mindestens 5 der obigen Verbindungen in Form von *P*-Werten bestimmt worden ist (bei *B. paracoli* jedoch nur 4). Weggelassen ist nur die Permeabilitätsreihe für *Chaetomorpha* (HOFFMANN 1936), weil sich in den Ergebnissen der Momentanversuche der Einfluss der schon oben (S. 19) erörterten Fehlerquellen allzu stark bemerkbar macht und die längeren Versuche nur mit einer geringeren Anzahl Verbindungen ausgeführt worden sind.

In Abb. 13 sind die Permeabilitätsreihen für folgende 29 Objekte angegeben: *Beggiatoa mirabilis* (RUHLAND & HOFFMANN 1925; SCHÖNFELDER 1931); Blattepidermiszellen von *Rhoeo discolor* (BÄRLUND 1929); »Blattzellen» von *Chara ceratophylla* (COLLANDER &

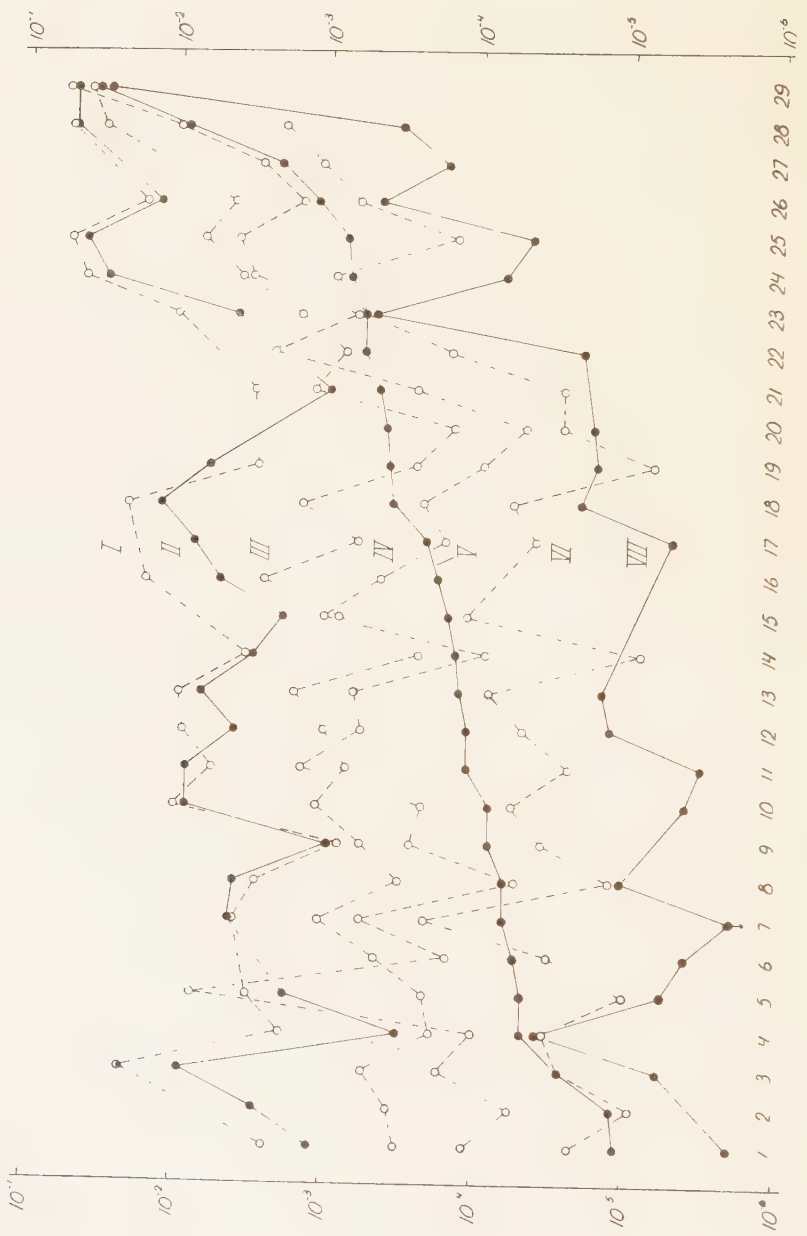
Bärlund 1933); subepidermale Stengelzellen von *Majanthemum bifolium* (Höfler 1934 b); subepidermale Blütenstielzellen von *Muscari racemosum*, Stengelparenchymzellen von *Potamogeton natans*, subepidermale Blattscheidenzellen von *Caltha palustris*, Parenchymzellen der Blattstielrinde von *Anemone hepatica*, Blattepidermiszellen von *Taraxacum officinale* (H)[1], *Zygnema* sp. (H) (Hofmeister 1935); unbefruchtete Eier von *Fucus vesiculosus* (Resühr 1935); subepidermale Blattscheidenzellen von *Curcuma rubescens*, Blattzellen von *Elodea densa*, Blattepidermiszellen von *Taraxacum pectinatiforme* (M), Wurzelepidermiszellen von *Lemna minor*, Blattzellen von *Plagiothecium denticulatum*, *Pylaiella litoralis*, *Oedogonium* sp., *Zygnema cyanosporum* (M), *Melosira* sp. (Marklund 1936); *Hippuris* (L = Luftblätter, W = Wasserblätter) (Wahry 1936); *Gentiana Sturmiana* (K = Korollzellen, S = Epidermiszellen des Stengels) (Höfler 1936); *Bacterium paracoli*, *Oscillatoria princeps*, *Licmophora œdipus*, *Spirogyra* sp. und *Ceramium diaphanum*.

Schon ein Blick auf das Diagramm überzeugt uns davon, dass die Permeabilitätsverhältnisse der untersuchten pflanzlichen Objekte einander im grossen und ganzen ähnlich sind. Doch auch deutliche Unterschiede lassen sich feststellen, die in zahlreichen Überschneidungen und noch zahlreicheren Knickungen der Kurven zum Ausdruck kommen. Im folgenden werden die wichtigsten Unterschiede näher besprochen.

Interessant ist in erster Linie die Verfolgung des gegenseitigen Verhältnisses von Harnstoff und Glyzerin, und zwar allein schon aus dem Grunde, weil sich die Einteilung der Objekte in zwei Gruppen gerade auf das gegenseitige Permeationsvermögen dieser beiden Stoffe basiert. Zu der ersten Gruppe werden alle diejenigen Objekte gezählt, in welche der Harnstoff rascher permeiert als das Glyzerin (Harnstofftypus), während die zweite Gruppe diejenigen Objekte bilden, deren Glyzerinpermeabilität ebenso gross oder grösser ist als ihre Durchlässigkeit für Harnstoff (Glyzerintypus).

Eine Betrachtung der beiden besprochenen Kurven auf unserer Abbildung zeigt, dass die Harnstoffkurve im allgemeinen deutlich oberhalb der Glyzerinkurve verläuft. Nur an fünf Punkten (14. *Caltha*,

[1] Der Buchstabe dient zur Unterscheidung von anderen gleichnamigen Objekten.


10⁻¹
10⁻²
10⁻³
10⁻⁴
10⁻⁵
10⁻⁶
I
II
III
IV
V
VI
VII
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
10⁻¹
10⁻²
10⁻³
10⁻⁴
10⁻⁵
10⁻⁶

18. *Taraxacum* (M), 19. *Rhoeo*, 20. *Gentiana* (K), 21. *Muscari*) sinkt die Harnstoffkurve deutlich unter die Glyzerinkurve, und zwar am stärksten bei *Rhoeo* und *Gentiana* (K), die nebst *Ranunculus repens* (Hofmeister 1935, S. 38) die extremsten Vertreter des Glyzerintypus unter den untersuchten Objekten darstellen. Doch geben zahlreiche Knickungen der Harnstoffkurve an, dass auch unter den Vertretern des Harnstofftypus Schwankungen in dem gegenseitigen Verhältnis der Harnstoff- und Glyzerinpermeabilität bestehen.

In einem nahen Zusammenhang hiermit steht die Frage, ob denn auch das Permeationsvermögen der anderen Aminogruppen führenden Verbindungen entsprechenden Schwankungen unterworfen ist. Die Kurven der Abbildung 13 zeigen unstreitig, dass die Permeationsgeschwindigkeiten dieser Stoffe (Malonamid, Harnstoff, Methylharnstoff, Azetamid) in einer sehr nahen Beziehung zueinander stehen. Es ist mithin »in der Tat motiviert, von einem 'amidophilen' Permeabilitätstypus zu sprechen» Marklund (1936, S. 79), zugleich aber auch von seinem konträren Typus, dem »amidophoben» oder Glyzerintypus.

Wie verhalten sich nun die vielwertigen Alkohole (Erythrit, Glyzerin, Äthylenglykol) zueinander? Eine Betrachtung des Diagramms führt uns zu dem Schluss, dass zwischen diesen Stoffen kein so nahes Verhältnis zu herrschen scheint wie bei den Aminogruppen führenden Verbindungen (vgl. Wilbrandt 1932). Es lässt sich nämlich nicht der Nachweis erbringen, dass die bei einem dieser drei Stoffe von Objekt zu Objekt festzustellenden Veränderungen der Permeationsgeschwindigkeit auch bei den anderen deutlich und in der gleichen Weise zum Ausdruck kommen, wie es dagegen bei den Aminogruppen führenden Verbindungen allgemein der Fall ist. Zu bedenken ist allerdings, dass die Aufklärung der gegenseitigen Beziehungen der vielwertigen Alkohole durch den Umstand erschwert

Abb. 13. Vergleichende Darstellung der Permeabilitätsreihen für verschiedene pflanzliche Objekte, geordnet nach steigenden Glyzerinwerten. — 1. *Plagiothecium*, 2. *Anemone*, 3. *Zygnema* (M), 4. *Hippuris* (W), 5. *Hippuris* (L), 6. *Majanthemum*, 7. *Oedogonium*, 8. *Curcuma*, 9. *Potamogeton*, 10. *Pylaiella*, 11. *Lemna*, 12. *Spirogyra*, 13. *Elodea*, 14. *Caltha*, 15. *Taraxacum* (H), 16. *Fucus*, 17. *Zygnema* (H), 18. *Taraxacum* (M), 19. *Rhoeo*, 20. *Gentiana* (K), 21. *Muscari*, 22. *Gentiana* (S), 23. *Licmophora*, 24. *Ceramium*, 25. *Chara*, 26. *Melosira*, 27. *Bacterium*, 28. *Oscillatoria*, 29. *Beggiatoa*.

wird, dass das Permeationsvermögen sowohl des Erythrits als auch des Äthylenglykols bei den meisten Objekten nur recht ungenau ermittelt werden konnte.

Betrachten wir noch einmal die Kurven in ihrem gesamten Verlauf. Am häufigsten vertreten haben wir da den Typus mit steigender Permeationsgeschwindigkeit in der Reihe Erythrit — Malonamid — Glyzerin — Harnstoff — Methylharnstoff — Azetamid — Äthylenglykol (oder die beiden letzten Glieder in umgekehrter Reihenfolge). Nur bei 19. *Rhoeo* (und 14. *Caltha*?), einem extremsten Vertreter des Glyzerintypus, permeiert das Malonamid sicher langsamer als das Erythrit. Auch bei 4. *Hippuris* (W) scheint es, als permeiere das Erythrit ein wenig rascher als das Malonamid, doch dürfte dieses Resultat wohl nur auf Versuchsfehlern beruhen, bedingt durch ein wahrscheinlich inhomogenes Material. Für gewöhnlich verläuft die Malonamidlinie zwischen den Erythrit- und Glyzerinkurven, nur bei 1. *Plagiothecium* und 7. *Oedogonium* (bzw. 24. *Ceramium* s. S. 79) wird das Permeationsvermögen des Glyzerins von demjenigen des Malonamids übertroffen, keineswegs aber unerwartet, da beide als extremste Vertreter des amidophilen Typus gelten (s. Marklund 1936, S. 81). Vorhin ist schon der Verlauf der Glyzerin- und Harnstoffkurven einem gegenseitigen Vergleich unterzogen worden. Die Harnstoff- und Methylharnstoffkurven wiederum zeigen ein paar Ausnahmen von der Regel, dass Harnstoff langsamer als Methylharnstoff permeiert. Das augenfälligste Beispiel bietet hierbei 5. *Hippuris* (L) dar, bei welchem in sonstiger Hinsicht zu einem recht gewöhnlichen Typus gehörenden Objekt die Permeation des Harnstoffs erheblich rascher als die des Methylharnstoffs, ja sogar des Azetamids sein soll. Doch in Anbetracht dessen, dass die Einzelwerte der Harnstoffversuche recht erhebliche Differenzen aufwiesen, dass in einigen Versuchen eine »zunehmende Ausdehnung der Protoplasten bis zur Deplasmolyse über den Ausgangsplasmolysegrad in der Traubenzuckerlösung» eintrat (Wahry 1936, S. 666) und dass Schädigungen beim Luftblatt am Ende der Rückdehnungszeit vielleicht beobachtet wurden (l. c., S. 668), ist es höchst wahrscheinlich, dass die ungewöhnlich rasche Permeation des Harnstoffs eine Folge krankhafter Beschleunigung ist. Bei 11. *Lemna*, 22. *Gentiana* (S) und 29. *Beggiatoa* (auch bei *Elodea*-Blättern der Zone II) permeiert der Harnstoff erheblich rascher als der Methylharnstoff und weicht dadurch

also vom gewöhnlichen Typus ab. (Über 15. *Taraxacum* (H) s. bei Markl.und 1936, S. 87.) Hinsichtlich des gegenseitigen Verhältnisses der Glyzerin- und Methylharnstofflinien ist besonders zu erwähnen, dass nur bei den extremen Amidophoben [19. *Rhoeo* und 20. *Gentiana* (K)] das Permeationsvermögen des Methylharnstoffs geringer als dasjenige des Glyzerins ist. Mit einer Ausnahme (29. *Beggiatoa*) permeieren von den 7 miteinander vergleichbaren Verbindungen das Azetamid und das Äthylenglykol am raschesten. Ihre Permeationsgeschwindigkeiten sind zumeist praktisch gleich gross, ist aber ein Unterschied vorhanden, so offenbart er sich gewöhnlich in einer rascheren Permeation des Azetamids. Zwar deuten einige Versuchsresultate (Partialversuche) bei 21. *Muscari* auf eine langsamere Permeation des Äthylenglykols im Vergleich zum Methylharnstoff, andererseits zeigen aber wieder die Totalversuche, dass die Permeation des Äthylenglykols rascher sein würde als die des Azetamids. Hofmeister (1935, S. 26) hält die Ergebnisse der ersteren Versuche für zuverlässiger, was auch an sich recht natürlich ist. Dessenungeachtet dürfte es nicht als wahrscheinlich gelten können, dass das Äthylenglykol wirklich langsamer als der Methylharnstoff permeiert, und zwar schon aus dem Grunde, weil *Muscari* einen verhältnismässig ausgesprochenen Vertreter des amidophoben Typus darstellt. Bei 4. *Hippuris* (W) ist die Permeationsgeschwindigkeit des Äthylenglykols recht wahrscheinlich grösser als angegeben und der gegenseitige Unterschied zwischen Azetamid und Äthylenglykol kleiner; jedenfalls erfordert der gegenteilige Befund Wahrys eine Bestätigung. Ferner ist wahrscheinlich, dass die Äthylenglykol- und Azetamidwerte für 9. *Potamogeton* etwas zu niedrig sind.

Es dürfte zum Schluss von besonderem Interesse sein, die graphische Darstellung im Lichte der Permeabilitätstheorien zu betrachten. Es handelt sich in erster Linie darum zu sehen, wie in den Kurven die Veränderungen der die Permeabilität bestimmenden Faktoren, wie z. B. der Porendichte und -Grösse der Plasmahäute sowie der Azidität und Hydrophobie der Plasmahautlipoide sich offenbaren.

Unter den dargelegten Permeabilitätsreihen weicht diejenige für 29. *Beggiatoa* von den übrigen sehr stark ab, und zwar hauptsächlich dadurch, dass sie von allen Reihen die geringste Ausdehnung besitzt. Dies hat, wie wir annehmen müssen, seine Ursache darin, dass bei

Beggiatoa sowohl die Dichte wie auch die Grösse der Plasmahautporen ungewöhnlich gross ist.

Eine Verringerung hauptsächlich der Porendichte, bei unveränderter Weite der Poren, findet ihren Ausdruck in einer veränderten Permeationsgeschwindigkeit der sich bei ihrer Permeation vornehmlich der Poren bedienenden Verbindungen. Die Permeationsgeschwindigkeit dieser Verbindungen erfährt durchgehend eine Abnahme, so dass sich die Permeabilitätsreihe nach unten hin in der Skala erweitert (23. *Licmophora*, 26. *Melosira*). Wenn wiederum allein die Porenweite abnimmt, während die Porendichte etwa dieselbe bleibt wie bei *Beggiatoa*, dann verlängert sich auch in diesem Falle (28. *Oscillatoria*) die Permeabilitätsreihe nach unten, wobei aber die Permeationshemmung vor allem die grössermolekularen Verbindungen, z. B. Erythrit, betrifft, da sich gerade bei ihnen der Porenweg schliesst. Zu den weitaus grössten Differenzen in der Permeationsgeschwindigkeit führt aber eine gleichzeitige Verminderung sowohl der Porendichte als der Porengrösse, in welchem Falle die Permeabilitätsreihe ihre grösste Ausdehnung nach unten hin erreicht. Man ist so zu den Permeabilitätsreihen für 27. *Bacterium*, 24. *Ceramium* und 25. *Chara* und zugleich auch zu dem am häufigsten vertretenen Verhältnis betreffs der Porendichte und -Grösse gelangt. Bei diesen Objekten gehen nur solche Verbindungen durch die Poren hindurch, deren Molrefraktion weniger als etwa 15 beträgt.

Die Verteilung der in Abb. 13 dargelegten 29 Permeabilitätsreihen auf den amidophilen und den amidophoben Typus ist bekanntlich höchst wahrscheinlich durch die verschiedene Azidität der Plasmahautlipoide bedingt, indem diese bei den Vertretern des erstgenannten Typus deutlich saurer sind als die des zweiten Typus. Die übrigen bei der Mehrzahl der Objekte auftretenden Verschiedenheiten rühren wohl zum grössten Teil von geringeren Aziditätsunterschieden bei den Plasmahautlipoiden, zum Teil aber auch von Schwankungen der Porendichte und -Grösse her. Das bei 11. *Lemna* und 22. *Gentiana* (S) konstatierte abweichende Verhältnis zwischen Harnstoff und Methylharnstoff lässt sich wohl am einfachsten durch die Annahme erklären, dass die Dichte der Poren von einer für den Durchtritt des Harnstoffmoleküls geeigneten Grösse gerade an den Plasmagrenzflächen besonders gross ist (s. Marklund 1936, S. 105; Höfler 1936, S. 239).

Auch darf man die Möglichkeit nicht vergessen, dass die Höhe und

Lage der Permeabilitätsreihen im Diagramm, ebenso wie die gegenseitigen Beziehungen der einzelnen Substanzen innerhalb der Reihe nicht ausschliesslich von der Porengrösse und -Dichte sowie von der Azidität der Plasmahautlipoide bedingt zu sein brauchen, sondern zum Teil vielleicht auch von dem verschiedenen gegenseitigen Verhältnis der hydrophilen und hydrophoben Radikale der Lipoidmoleküle bestimmt werden können. Doch lässt sich über diesen Faktor, wie vorhin bereits mehrmals hervorgehoben, nur schwer etwas mit Sicherheit aussagen, da sein Einfluss auf die Permeabilität weitgehend in ähnlicher Art zutage treten dürfte wie derjenige der Plasmahautporen. Übrigens soll in diesem Zusammenhang nicht verschwiegen werden, dass die Frage von der eigentlichen Natur der sog. »Poren» der Plasmahaut noch sehr einer Erklärung bedarf.

Bevor wir das Diagramm verlassen, ist noch auf einen Umstand aufmerksam zu machen. Wie bereits aus dem Obigen hervorgegangen sein dürfte, ist die graphische Darstellung der Permeabilitätseigenschaften in der Weise, wie sie in Abb. 13 durchgeführt wurde, ein ausgezeichnetes Mittel, verschiedene Objekte miteinander zu vergleichen und so eventuelle Besonderheiten eines neuen Objekts anschaulich hervortreten zu lassen. Manchmal sind, wie wir gesehen haben, diese Besonderheiten solcher Art, dass sie den Verdacht auf irgendwelche Versuchsfehler nahelegen und so Anlass zur Ausführung neuer Kontrollversuche geben.

X. ZUSAMMENFASSUNG.

Im Sinne der vergleichenden Permeabilitätsforschung wurde unter Benutzung verschiedener osmotischer Methoden die Plasmapermeabilität einiger Pflanzenzellen für Anelektrolyte untersucht. Die untersuchten Objekte repräsentieren zum grössten Teil entweder solche systematische Gruppen — *Bacteria, Cyanophyceae, Rhodophyceae, Pennales* (*Diatomeae*) — oder solche anatomische Zelltypen (embryonale Zellen der Wurzelspitze), die bisher fast gar nicht hinsichtlich ihrer Anelektrolytenpermeabilität untersucht worden sind.

Für *Bacterium paracoli, Oscillatoria princeps, Licmophora œdipus, Spirogyra* sp. und *Ceramium diaphanum* haben sich Permeationskonstanten berechnen lassen. Bezüglich *B. paracoli, Licmophora* und *Spirogyra* konnte auf Grund der Versuchsergebnisse der Nachweis erbracht werden, dass die Permeation sämtlicher in dieser Beziehung geprüfter Verbindungen gemäss dem Fickschen Diffusionsgesetz stattfindet; bei *B. paracoli* traf das für Saccharose, Glukose und Mannit, bei *Licmophora* für Saccharose, Erythrit, Malonamid, Glyzerin, Harnstoff, Methylharnstoff und Äthylenglykol und bei *Spirogyra* für Glyzerin, Harnstoff, Methylharnstoff und Äthylenglykol zu. In den übrigen Fällen haben unvermeidliche Fehlerquellen eine genaue Bestimmung des Permeationsverlaufs erschwert.

Die Versuchsergebnisse stehen in gutem Einklang mit der Lipoidfiltertheorie Collanders. Bei den meisten Objekten scheint nämlich das Eindringen der Stoffe in die Zellen in entscheidendem Masse von ihrer relativen Löslichkeit in die Plasmahautlipoide abhängig zu sein. Zugleich lässt sich aber auch feststellen, dass Stoffe mit geringerer Molrefraktion als 15 rascher permeieren, als auf Grund ihrer relativen Lipoidlöslichkeit zu erwarten wäre.

Bei den untersuchten plasmolysierbaren Bakterien ist das Permeationsvermögen der Stoffe, im Gegensatz zu *Beggiatoa*, in der Hauptsache von ihrer relativen Lipoidlöslichkeit abhängig. Die auf

die Flächeneinheit bezogene Permeabilität dieser Bakterien ist nicht übermässig gross; vielmehr wird die extreme Permeationsgeschwindigkeit hauptsächlich von der ungewöhnlich grossen relativen Oberfläche der Bakterienzellen bedingt.

Oscillatoria erwies sich in bezug auf ihre Permeabilitätseigenschaften den Erwartungen HÖFLERS entsprechend als eine Zwischenform zwischen der sonst so extremen *Beggiatoa* einerseits und den gewöhnlichen Pflanzenzellen andererseits.

Die sehr charakteristischen Permeabilitätseigenschaften der zur Ordnung *Pennales* zählenden Kieselalge *Licmophora* stimmen in ausgesprochenem Masse mit denjenigen der von MARKLUND (1936) untersuchten *Melosira*, eines Vertreters der Ordnung *Centrales*, überein.

Die Permeabilitätseigenschaften von *Ceramium* — der ersten in dieser Beziehung untersuchten Rhodophycee — und ebenso diejenigen der embryonalen oder halbembryonalen Wurzelzellen von *Lepidium* scheinen nicht in höherem Grade vom gewöhnlichen Durchschnittstypus abzuweichen.

In Abb. 13, S. 96, sind die Permeabilitätsreihen aller derjenigen 29 pflanzlichen Objekte graphisch zusammengefasst, deren Protoplasmapermeabilität (P-Werte) für einige am häufigsten untersuchte Anelektrolyte bisher bestimmt worden ist. Aus der Darstellung geht hervor, dass die Permeabilitätsverhältnisse dieser Objekte miteinander im grossen und ganzen übereinstimmen. Abweichungen vom allgemeinen Typus können entweder auf eine mehr als gewöhnlich grosse Porenpermeabilität (*Beggiatoa*, *Licmophora*, *Melosira*, *Oscillatoria*) oder auf eine wechselnde Azidität der Plasmahautlipoide zurückgeführt werden.

Die vorliegende Arbeit wurde während der Jahre 1933–37 im Botanischen Institut der Universität Helsinki ausgeführt, dessen Vorstand, Herrn Prof. Dr. K. LINKOLA, ich meinen ergebensten Dank ausspreche.

Die Anregung zu diesen Studien hat mein Lehrer und Freund, Prof. Dr. RUNAR COLLANDER gegeben. Für seine in freundlichster Weise bewiesene Anteilnahme an meiner Arbeit und für vielfache Unterstützung durch Rat und Tat sage ich ihm meinen wärmsten Dank.

LITERATURVERZEICHNIS.

Bärlund, Hugo, 1929, Permeabilitätsstudien an Epidermiszellen von *Rhoeo discolor*. Acta bot. fenn., 5, S. 1–117.

Bonte, Helene, 1935, Vergleichende Permeabilitätsstudien an Pflanzenzellen. Protoplasma, 22, S. 209–242.

Bünning, Erwin, 1935, Zellphysiologische Studien an Meeresalgen. Ibid., 22, S. 444–456.

von Cholnoky, B., 1928, Über die Wirkung von hyper- und hypotonischen Lösungen auf einige Diatomeen. Internat. Revue d. ges. Hydrob. u. Hydrogr., 19, S. 452–500.

—»— 1935, Plasmolyse und Lebendfärbung bei *Melosira*. Protoplasma, 22, S. 161–172.

Collander, Runar & Bärlund, Hugo, 1926, Über die Protoplasmapermeabilität von *Rhoeo discolor*. Soc. Scient. Fenn., Comm. Biol., 2, n:o 9, S. 1–13.

—»— 1933, Permeabilitätsstudien an *Chara ceratophylla*, II. Acta bot. fenn., 11, S. 1–114.

Derry, Bayoumi Hussein El, 1930, Plasmolyseform- und Plasmolysezeit-Studien. Protoplasma, 8, S. 1–49.

Fischer, Alfred, 1895, Untersuchungen über Bakterien. Jahrb. f. wiss. Bot., 27, S. 1–163.

—»— 1903, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl., Jena.

Frey-Wyssling, A., 1935, Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. Berlin.

Germ, Hermann, 1933, Untersuchungen über die systrophische Inhaltsverlagerung in Pflanzenzellen nach Plasmolyse. III. Protoplasma, 18, S. 260–280.

Hill, Samuel, E., 1929, The penetration of luminous bacteria by the ammonium salts of the lower fatty acids. I. Journ. Gen. Physiol., 12, S. 863–872.

von Hofe, Friedel, 1933, Permeabilitätsuntersuchungen an *Psalliota campestris*. Planta, 20, S. 354–390.

Hoffmann, Curt, 1932, Zur Bestimmung des osmotischen Druckes an Meeresalgen. Ibid., 16, S. 413–432.

—»— 1936, Beiträge zur Physiologie der Meeresalgen. I. Permeabilitäts-Untersuchungen an der Grünalge *Chaetomorpha aerea*. Kieler Meeresforsch., 1, S. 126–166.

Höfler, Karl, 1930, Das Plasmolyse-Verhalten der Rotalgen. Zschr. f. Bot., 23, S. 570–588.

Höfler, Karl, 1931, Hypotonietod und osmostische Resistenz einiger Rotalgen. Österr. bot. Zschr., 80, S. 51–71.

—»— 1932, Vergleichende Protoplasmatik. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 50, S. 53–67.

—»— 1934 a, Neuere Ergebnisse der vergleichenden Permeabilitätsforschung. Ibid., 52, S. 355–372.

—»— 1934 b, Permeabilitätsstudien an Stengelzellen von *Majanthemum bifolium*. (Zur Kenntnis spezifischer Permeabilitätsreihen. I.) Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-nat. Klasse, I. Abt., 143, S. 213–264.

—»— 1936, Permeabilitätsunterschiede in verschiedenen Geweben einer Pflanze. Mikrochemie, 20, N. F. 14, S. 224–242.

Hofmeister, Lothar, 1935, Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica, 113, S. 1–83.

Huber, Bruno & Höfler, Karl, 1930, Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jahrb. f. wiss. Bot., 73, S. 351–511.

—»— & Schmidt, Helmut, 1933, Plasmolyse und Permeabilität. Protoplasma, 20, S. 203–208.

Hylkema, B., 1916, De permeabiliteitsverhoudingen bij gistcellen en bacteriën. Diss. Utrecht.

Iljin, W. S., 1935, Die Veränderung des Turgors der Pflanzenzellen als Ursache ihres Todes. Protoplasma, 22, S. 299–311.

Kotte, H., 1914, Turgor und Membranquellung bei Meeresalgen. Wiss. Meeresunters., N.F. 17, Abt. Kiel, S. 115–167.

Krabbe, G., 1896, Über den Einfluss der Temperatur auf die Geschwindigkeit der osmotischen Wasserbewegung. Jahrb. f. wiss. Bot., 29, S. 441–498.

Lepeschkin, W. W., 1909, Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 27, S. 129–142.

Lundegårdh, Henrik, 1911, Über die Permeabilität der Wurzelspitzen von *Vicia faba* unter verschiedenen äusseren Bedingungen. Kungl. Sv. Vet. Akad. Handl., 47, n:o 3, S. 1–254.

Marklund, Gunnar, 1936, Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta bot. fenn., 18, S. 1–110.

Miehe, H., 1931, Bakterien (Morphologie). Handwb. d. Naturwissensch., 2 Aufl., Bd. 1, S. 670–680.

Nyberg, Carl & Maja, 1933, Untersuchungen über die zur Coli–Typhus–Dysenterie-Gruppe gehörenden Bakterien im Kloakenwasser. Acta Soc. Med. Fenn. »Duodecim», 16 A, n:o 13, S. 1–20.

Oppenheimer, H. R., 1930, Dehnbarkeit und Turgordehnung der Zellmembran. Ber. Deutsch. Bot. Ges., 48, S. 192–206.

Overton, E., 1895, Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. Vierteljahrsschr. d. Naturforsch. Ges. in Zürich, 40, S. 159–201.

—»— 1896, Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. Ibid., 41, S. 383–406.

—»— 1902, Beiträge zur allgemeinen Muskel- und Nervenphysiologie. Pflügers Arch., 92, S. 115–280, 346–386.

Pringsheim, E. G., 1931, Untersuchungen über Turgordehnung und Membranbeschaffenheit. Jahrb. f. wiss. Bot., 74, S. 749–796.

Raichel, Basjo, 1928, Über den Einfluss osmotisch wirksamer Mittel auf die Bakterienzelle. Arch. f. Protistenkunde, 63, S. 333–361.

Resühr, Bruno, 1935, Hydratations- und Permeabilitätsstudien an unbefruchteten Fucus-Eiern (*Fucus vesiculosus* L.). Protoplasma, 24, S. 531–586.

Ruhland, W. & Hoffmann, C., 1925, Die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis*. Ein Beitrag zur Ultrafiltertheorie des Plasmas. Planta, 1, S. 1–83.

Sakamura, Tetsu, 1933, Beiträge zur Protoplasmaforschung an *Spirogyra*-Zellen. Journ. Fac. Sc., Hokkaido Imp. Univ., Ser. 5, Bot. 2, S. 287–316.

Schmid, Günther, 1923, Das Reizverhalten künstlicher Teilstücke, die Kontraktilität und das osmotische Verhalten der *Oscillatoria Jenensis*. Jahrb. f. wiss. Bot., 62, S. 328–419.

Schmidt, Helmut, 1936, Plasmolyse und Permeabilität. Ibid., 83, S. 470–512.

Schönfelder, Susanne, 1931, Weitere Untersuchungen über die Permeabilität von *Beggiatoa mirabilis* nebst kritischen Ausführungen zum Gesamtproblem der Permeabilität. Planta, 12, S. 414–504.

Strugger, Siegfried, 1935, Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. Berlin.

Tröndle, Arthur, 1918, Sur la perméabilité du protoplasme vivant pour quelques sels. Arch. Sc. phys. et nat., 45, S. 38–54, 117–132.

—»— 1920, Neue Untersuchungen über die Aufnahme von Stoffen in die Zelle. Biochem. Zschr., 112, S. 259–285.

Ulrich, Hans, 1934, Untersuchungen über die Permeation lipoidunlöslicher Nichtleiter von relativ grossem Molekularvolumen in die Erythrocyten von Säugetieren. Pflügers Arch., 234, S. 42–50.

Wahry, Elfriede, 1936, Permeabilitätsstudien an *Hippuris*. Jahrb. f. wiss. Bot., 83, S. 657–705.

Walter, Heinrich, 1923, Protoplasma- und Membranquellung bei Plasmolyse. Untersuchungen an *Bangia fuscopurpurea* und anderen Algen. Ibid., 62, S. 145–213.

Weber, Friedl, 1931, Harnstoff-Permeabilität ungleich alter *Spirogyra*-Zellen. Protoplasma, 12, S. 129–140.

—»— 1932, Plasmolyse-Resistenz und -Permeabilität bei Narkose. Ibid., 14, S. 179–191.

Wilbrandt, Walther, 1932, Vergleichende Untersuchungen über die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Anelektrolyte. Pflügers Arch., 229, S. 86–99.

SUOMENKIELINEN SELOSTUS.

VERTAILEVIA LÄPÄISEVÄISYYSTUTKIMUKSIA, ERIKOISESTI ALEMMILLA KASVEILLA.

Vertailevan permeabiliteettitutkimuksen mielessä on erilaisin osmoottisin menetelmin selvitelty eräiden kasvisolujen plasmaläpäiseväisyyttä anelektrolyyteille. Tutkitut objektit edustavat suurimmaksi osaksi joko sellaisia systemaattisia ryhmiä — *Bacteria*, *Cyanophyceae*, *Rhodophyceae*, *Pennales* (*Diatomeae*) — tai sellaisia anatomisia solutyyppejä (juurikärjen embryonaaliset solut), joiden anelektrolyyttiläpäiseväisyyttä ei ole aikaisemmin juuri lainkaan selvitetty.

Bacterium paracoli-, *Oscillatoria princeps*-, *Licmophora œdipus*-, *Spirogyra* sp.- ja *Ceramium diaphanum*-solujen permeatiovakioita on voitu laskea. Tekijä on todennut, että ruokosokerin, rypälesokerin ja manniitin permeatio *B. paracoli*-soluihin, ruokosokerin, erytriitin, malonamiidin, glyseriinin, virtsa-aineen, metyylivirtsa-aineen ja etyleeniglykolin permeatio *Licmophora*-soluihin sekä glyseriinin, virtsa-aineen, metyylivirtsa-aineen ja etyleeniglykolin permeatio *Spirogyra*-soluihin tapahtuu Fickin diffusiolain mukaan. Muissa tapauksissa ovat sellaiset virhelähteet, jotka eivät olleet vältettävissä, vaikeuttaneet permeationopeuksien tarkkaa määräämistä.

Koetulokset ovat sopusoinnussa Collanderin lipoidifilteriteorian kanssa. Useimmilla objekteilla näyttää nimittäin aineiden tunkeutuminen soluihin riippuvan ratkaisevassa määrässä niiden suhteellisesta liukenevaisuudesta plasmakelmulipoideihin. Mutta samalla on myös todettavissa, että aineet, joiden molrefraktio on < 15, permeoivat nopeammin kuin niiden suhteellisen lipoidiliukoisuuden pohjalla olisi odotettavissa.

Tutkituilla plasmolysoituvilla bakteereilla riippuu aineiden tunkeutumiskyky, päinvastoin kuin *Beggiatoa*lla, pääasiallisesti niiden suhteellisesta lipoidiliukoisuudesta. Näiden bakteerien pintayksikköä kohden laskettu permeabiliteetti ei ole poikkeuksellisen suuri; pikemmin riippuu äärimmäisen suuri tunkeutumisnopeus pääasiallisesti tavattoman suuresta suhteellisesta pinnasta bakteerisoluissa.

*Oscillatoria*n läpäiseväisyysominaisuudet osoittautuivat olevansa, vastaten Höflerin odotuksia, välimuoto muuten niin äärimmäisen *Beggiatoa*n ja tavallisten kasvisolujen välillä.

Pennales-lahkoon kuuluvan *Licmophora*-piilevän erittäin luonteenomaiset läpäiseväisyysominaisuudet ovat hyvin suuressa määrin samanlaiset kuin MARKLUNDin (1936) tutkiman *Centrales*-lahkon edustajan, *Melosira*n permeabiliteettiominaisuudet.

*Ceramium*in — ensimmäisen tässä suhteessa tutkitun punalevän — samoinkuin *Lepidium*in alkiollisten ja puolialkiollisten juurisolujen läpäiseväisyysominaisuudet eivät näytä suuremmassa määrässä poikkeavan tavallisesta keskityypistä.

Graafisesta esityksestä (S. 96) löytyvät kaikkien niiden 29 kasviobjektin, joiden protoplasmaläpäiseväisyys (*P*-arvot) on määrätty eräille yleisimmin tutkituille anelektrolyyteille, permeabiliteettisarjat. Tästä esityksestä ilmenee, että näiden objektien läpäiseväisyysominaisuudet ovat suurin piirtein samanlaiset. Poikkeukset yleisestä tyypistä johtuvat joko tavallista suuremmasta huokospermeabiliteetistä (*Beggiatoa*, *Licmophora*, *Melosira*, *Oscillatoria*) tai plasmakelmulipoidien vaihtelevasta happamuudesta.

Tämä tutkimus on suoritettu vuosien 1933–37 aikana Helsingin yliopiston kasvitieteellisessä laitoksessa.

Berichtigungen:

Im Versuchsprotokoll für *Licmophora* ist in der Harnstoffreihe des Versuches vom 19. XII. 34 (S. 43) der Wert 0.075 ausgefallen; die vollständige Reihe lautet also: 0.070, 0.072, 0.075, 0.080, 0.090 und 0.100.

In Tab. 9, S. 63, ist in der dritten Spalte statt den Werten 16.9 und 6.8, 6.9 bzw. 1.8 zu setzen.